

Perspektiven der Hirnforschung



# Neuro forum

Organ der Neurowissenschaftlichen Gesellschaft



*Entwicklungs- und aktivitätsabhängige Regulation von Chloridtransportern*

*Pheromonkommunikation bei Mäusen: Vom Gen zum Verhalten*

*Schallemissionen aus Insektenohren: Hinweis auf aktives Hören?*



# Blick für die Elektrophysiologie

Ideales Mikroskop für patch-clamp Experimente und Intravitalmikroskopie

## Schlank, stabil und ausbaufähig

Das stabile Stativ kommt in der super-schlanken „i“-Form, sodass jede Menge Platz im Probenraum für Manipulatoren, Pipetten und Badkammer und Tischkonstruktionen vorhanden ist. Für höhere Proben (Ganztiere) kann das Stativ verlängert werden.

## Bedienerfreundlich

Alles, was man beim Experiment am Mikroskop bedienen muss liegt griffgünstig vorne: Leuchtfeldblende, beidseitiger Fokus, Objektivwechsler, Kondensor. „Smooth“ click-stops unterdrücken jede Vibration.



Upright Research Microscope for Patch-clamp Experiments

# ECLIPSE FN1

## Optik vom Feinsten

Für einfachstes Einstellen „Übersicht-Detail-Vergrößerung“ 5,6x bis 64x mit einem Objektiv: Das „LWD“ 16x/0,8, Arbeitsabstand 3 mm macht es besonders Anfängern einfach, Pipetten exakt zu platzieren.

Einmaliges Wasserobjektiv Apo 100x/N.A. 1,1, Arbeitsabstand 2,5 mm, mit optischer Tiefenkorrektur. Erweiterte NIR DIC Korrektur(850 nm).

## Elektrisch rauschfrei

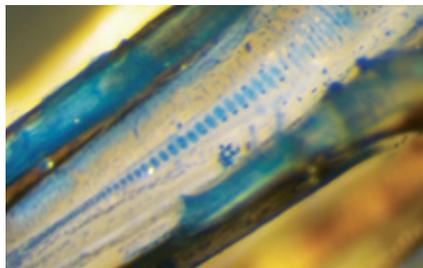
Auch die neue NIR-Durchlichtbeleuchtung hat ihre elektrische Einheit getrennt vom Stativ. Über Faser gelangt das Licht ins Mikroskop.



Nikon GmbH, Mikroskope  
Tiefenbroicher Weg 25  
40472 Düsseldorf



Tel.: +49 211 94 14 0 . Fax: +49 211 94 14 322  
mikroskope.messtechnik@nikon.de  
www.nikoninstruments.eu



**Zum Titelbild: Tympanalorgan im Vorderbein einer tropischen Laubheuschrecke (*Mecopoda elongata*), nach Methylenblaufärbung der Crista acustica (s. Artikel von Kössl et al., S. 166).**



**Vorstand der  
Amtsperiode 2007/2009**

*Präsident:*  
**Prof. Dr. Mathias Bähr, Göttingen**

*Vizepräsident:*  
**Prof. Dr. Sigrun Korsching, Köln**

*Schatzmeister:*  
**Prof. Dr. Andreas Draguhn, Heidelberg**

*Generalsekretär:*  
**Prof. Dr. Ulrich Dirnagl, Berlin**

*Sektionssprecher  
Computational Neuroscience:*  
**Prof. Dr. Ad Aertsen, Freiburg**

*Entwicklungsneurobiologie/Neurogenetik:*  
**Prof. Dr. Michael Frotscher, Freiburg**

*Klinische Neurowissenschaften:*  
**Prof. Dr. Hans-Peter Hartung, Düsseldorf**

*Kognitive Neurowissenschaften:*  
**Prof. Dr. Niels Birbaumer, Tübingen**

*Molekulare Neurobiologie:*  
**Prof. Dr. Eckart Gundelfinger, Magdeburg**

*Neuropharmakologie und -toxikologie:*  
**Prof. Dr. Rainer Schwarting, Marburg**

*Systemneurobiologie:*  
**Prof. Dr. Ulf Eysel, Bochum**

*Verhaltensneurowissenschaften*  
**Prof. Dr. Uwe Homberg, Marburg**

*Zelluläre Neurobiologie:*  
**Prof. Dr. Hanns Hatt, Bochum**

Inhalt 147

HAUPTARTIKEL

**Peter Blaesse und Hans Gerd Nothwang** 148

Neuronale Chloridhomöostase: entwicklungs- und aktivitätsabhängige Regulation von Chloridtransportern

**Frank Zufall und Trese Leinders-Zufall** 159

Pheromonkommunikation bei Mäusen: Vom Gen zum Verhalten

**Manfred Kössl, Doreen Möckel, Melanie Weber und Ernst-August Seyfarth** 166

Schallemissionen aus Insektenohren: Hinweis auf aktives Hören?

ARTIKEL DES QUARTALS

**Arthur R. Houweling und Michael Brecht** 174

Behavioural report of single neuron stimulation in somatosensory cortex

NACHRUF 177

Sabine Grüsser-Sinopoli (1964 - 2008)

FORSCHUNGSFÖRDERUNG

SFB 779: Neurobiologie motivierten Verhaltens 178

NACHRICHTEN AUS DER DFG

Ausschreibung für deutsch-französische Projekte in der Gesundheitsforschung 158

Die DFG ruft zur Antragstellung im Programm „NIH/DFG Research Career 180

Transition Award Program“ auf

DFG ruft zur Antragstellung von neuen Klinischen Forschergruppen auf 180

NACHRICHTEN AUS DER NEUROWISSENSCHAFTLICHEN GESELLSCHAFT

Gertrud-Reemtsma-Promovendenpreis 181

BÜCHER

Braintertainment – Expeditionen in die Welt von Geist und Gehirn 181

AUSBLICK 182

IMPRESSUM 182



# Neuronale Chloridhomöostase: entwicklungs- und aktivitätsabhängige Regulation von Chloridtransportern

Peter Blaesse und Hans Gerd Nothwang

## Zusammenfassung

Neuronale Chloridregulation spielt eine zentrale Rolle bei zahlreichen Prozessen im Nervensystem. In den meisten adulten Neuronen ist die intrazelluläre Chloridkonzentration niedrig, sodass beim Öffnen von Chloridkanälen ein Einstrom der Anionen erfolgt. Dieser Einstrom bildet die Grundlage für schnelle synaptische Inhibition. Junge Neurone sowie einige sensorische Neurone weisen hingegen eine so hohe Chloridkonzentration auf, dass die Flussrichtung nach außen gerichtet ist und es beim Öffnen von Chloridkanälen zu einer chloridvermittelten Depolarisation kommt. Wir wissen heute auch, dass nach bestimmten neuronalen Aktivitätsmustern und bei neurologischen Erkrankungen wie Epilepsie und chronischem Schmerz, die intrazelluläre Chloridkonzentration verändert ist. Eine wichtige Rolle bei der neuronalen Chloridhomöostase spielen Kation-Chlorid-Kotransporter. Ihre Analyse hat immens zu unserem Verständnis der Chloridregulation beigetragen. Neuere Befunde zeigen dabei, dass die molekularen Mechanismen der Chloridregulation wesentlich komplexer und heterogener sind als wir es bis vor kurzem angenommen haben. In diesem Übersichtsartikel möchten wir die bisher bekannten Mechanismen zusammenfassen und aktuelle Fragestellungen aufzeigen.

## Abstract

**Neuronal Chloride Homeostasis: Development and Activity-dependent Regulation of Cation-chloride cotransporters.**

Neuronal chloride regulation affects many processes in the nervous system. Most adult neurons acquire a low intracellular chloride concentration to generate an inwardly directed electrochemical gradient for chloride flux. Consequently, the opening of chloride channels such as ionotropic GABA or glycine receptors will cause hyperpolarisation. In contrast, young neurons and some sensory neurons possess a high chloride concentration, which generates an outwardly directed chloride gradient. Opening of chloride channels in these neurons will hence cause depolarisation. Furthermore, the intracellular chloride concentration is altered by neuronal activity and under pathological conditions such as seizures and chronic pain. Recent research has established cation-chloride cotransporters as essential players in neuronal chloride homeostasis. Their molecular, genetic and electrophysiological analysis has greatly contributed to our current knowledge in this field. However, it became apparent that neuronal chloride regulation demonstrates a much more complex orchestration than initially thought. In this review, we summarize the currently known mechanisms in chloride regulation and spot important questions.

**Key words:** chloride-regulation; cation-chloride cotransporter; inhibitory synapse; multifunctional protein; auditory system

## Einleitung

Chlorid ( $\text{Cl}^-$ ) ist neben Bicarbonat das häufigste freie Anion in tierischen Zellen. Klassische Untersuchungen an Skelettmuskeln führten jahrelang zur Annahme, dass  $\text{Cl}^-$  passiv verteilt sei und im thermodynamischen Gleichgewicht vorliege. Heute wissen wir jedoch, dass  $\text{Cl}^-$  wichtige physiologische Rollen inne hat und seine

Verteilung aktiv reguliert wird. Daher sind in den letzten Jahren vermehrt  $\text{Cl}^-$ -Transporter in den wissenschaftlichen Fokus gerückt. Einen Schwerpunkt bilden dabei Untersuchungen an Neuronen, da die ionotropen Rezeptoren für die beiden wichtigsten inhibitorischen Neurotransmitter des zentralen Nervensystems, GABA und Glyzin, ligandengesteuerte  $\text{Cl}^-$ -Kanäle darstellen. Die Rezeptorkanäle besitzen

neben der  $\text{Cl}^-$ -Leitfähigkeit noch eine Bicarbonat-Leitfähigkeit, die aber deutlich niedriger ist. An den meisten GABA- und glyzinerigen Synapsen bestimmt deshalb die intrazelluläre Chloridkonzentration ( $[\text{Cl}^-]_i$ ) die Richtung des durch GABA bzw. Glyzin ausgelösten Stroms.

Im Gegensatz zu anderen tierischen Zellen weisen reife Neurone meist eine niedrige  $[\text{Cl}^-]_i$  auf. Dadurch ist der elektrochemische Gradient für  $\text{Cl}^-$  ins Zellinnere gerichtet (Abbildung 1). Das Öffnen ionotroper GABA- oder Glyzinrezeptoren führt somit zum  $\text{Cl}^-$ -Einstrom und damit zur Hyperpolarisation.

Arbeiten an jungen Neuronen erbrachten schon vor mehr als 25 Jahren den überraschenden Befund, dass die als inhibitorisch bekannten Transmitter dort keine Hyperpolarisation auslösen, sondern im Gegenteil die Neurone depolarisieren (Obata et al. 1978; Cherubini et al. 1990; Luhmann und Prince 1991). Die Depolarisation kann dabei so stark sein, dass sie Aktionspotenziale auslöst, also exzitatorisch wirkt. Zahlreiche Nachfolgeexperimente ergaben, dass diese depolarisierende Wirkung ebenfalls auf einen  $\text{Cl}^-$ -Strom zurückzuführen ist, der in den unreifen Neuronen aufgrund einer erhöhten  $[\text{Cl}^-]_i$  auswärtsgerichtet ist (Zhang et al. 1991; Ehrlich et al. 1999; Wang et al. 2001). Durch die Depolarisation können GABA und Glyzin, wie Glutamat in erregenden Synapsen, ein Öffnen spannungsabhängiger  $\text{Ca}^{2+}$ -Kanäle auslösen (Abbildung 1). Das durch diese Kanäle einfließende  $\text{Ca}^{2+}$  bildet den Ausgangspunkt zahlreicher Signalkaskaden, die für Reifungsprozesse notwendig sind (Ben-Ari 2002). Die meisten Neurone kehren also während ihrer Entwicklung den elektrochemischen Gradienten für  $\text{Cl}^-$  um, so dass GABA und Glyzin von einer depolarisierenden zu einer hyperpolarisierenden Wirkung wechseln (D-H-Wechsel). Vor diesem Wechsel werden die Neurone sehr häufig als unreife Neurone bezeichnet. Da für Veränderungen in der  $[\text{Cl}^-]_i$  aktive Transportprozesse über die Plasmamembran notwendig sind, waren die letzten Jahre weltweit Forscher intensiv damit beschäftigt, die Natur der am Aufbau der  $[\text{Cl}^-]_i$  beteiligten Transporter aufzuklären.

Interessanterweise liegt das  $\text{Cl}^-$ -Gleichgewichtspotenzial ( $E_{\text{Cl}^-}$ ) anders als die Gleichgewichtspotenziale der beiden wichtigsten Kationen  $\text{Na}^+$  und  $\text{K}^+$  nahe dem Ruhemembranpotenzial. Dadurch können schon geringe Änderungen in der Aktivität von Chloridtransportern eine Schwächung der Inhibition oder gar eine Umkehr des  $\text{Cl}^-$ -Stroms herbeiführen. Außer beim D-H-

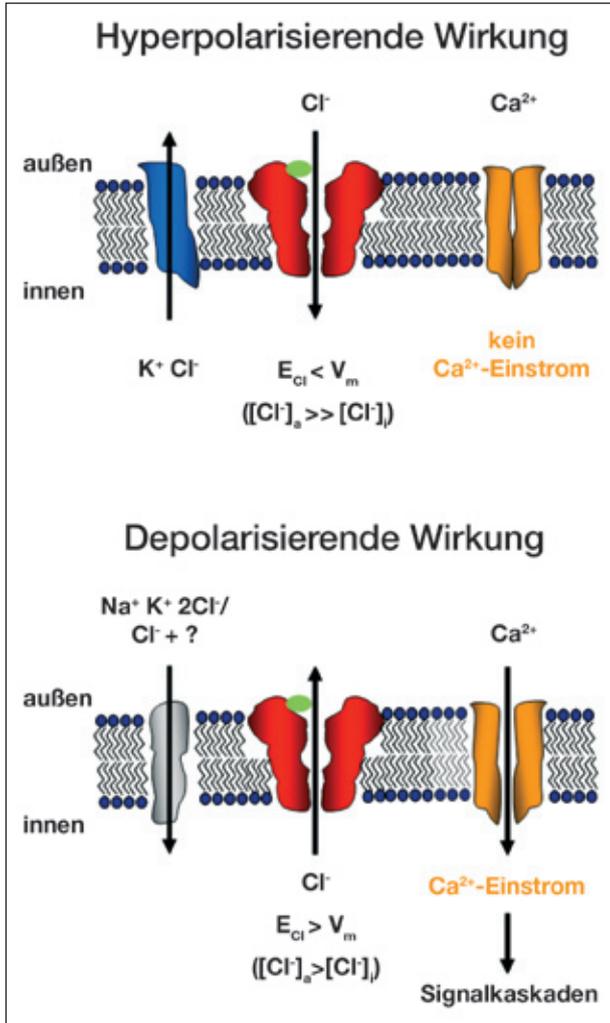


Abb. 1: Die Wirkung inhibitorischer Neurotransmitter hängt von der intrazellulären Chloridkonzentration ab. Die hyperpolarisierende Wirkung von GABA und Glyzin beruht darauf, dass das  $Cl^-$ -Umkehrpotenzial ( $E_{Cl}$ ) negativer als das Ruhemembranpotenzial ( $V_m$ ) ist. Der elektrochemische Gradient für  $Cl^-$  ist deshalb nach innen gerichtet, es kommt beim Öffnen von  $Cl^-$ -Rezeptorkanälen zu einem  $Cl^-$ -Einstrom, der das Membranpotenzial absenkt. Um  $E_{Cl}$  negativer als  $V_m$  zu halten, wird die Aktivität des  $K^+$ - $Cl^-$ -Kotransporters KCC2 benötigt, der als  $Cl^-$ -Auswärtstransporter fungiert. Spannungsgesteuerte  $Ca^{2+}$ -Kanäle bleiben bei einer Hyperpolarisation durch GABA oder Glyzin geschlossen. Die zu Beginn der Entwicklung depolarisierende Wirkung von GABA und Glyzin beruht auf einem  $E_{Cl}$ , das positiver als das  $V_m$  ist. Dies bewirkt beim Öffnen der  $Cl^-$ -Rezeptorkanäle einen  $Cl^-$ -Ausstrom. Um die intrazelluläre Chloridkonzentration zu erhöhen und dadurch ein relativ positives  $E_{Cl}$  zu bewirken, wird ein  $Cl^-$ -Einwärtstransporter benötigt. Der  $Cl^-$ -Einwärtstransport wird in einigen Regionen des Gehirns durch den  $Na^+$ - $K^+$ - $2Cl^-$ -Kotransporter NKCC1 vermittelt, in anderen Regionen ist es jedoch ein noch nicht identifiziertes Protein. Die durch GABA oder Glyzin ausgelöste Depolarisation führt zum Öffnen spannungsgesteuerter  $Ca^{2+}$ -Kanäle. Das einströmende  $Ca^{2+}$  löst Signalkaskaden aus, die vermutlich bei der Reifung der inhibitorischen Synapsen eine wichtige Rolle spielen.

Wechsel kann dies in Abhängigkeit neuronaler Aktivitätsmuster oder unter pathologischen Veränderungen wie Epilepsie und chronischem Schmerz auftreten (siehe Exkurs 1).

### Die Familie der Kation-Chlorid-Kotransporter

Untersuchungen zahlreicher Labors ergaben in den letzten Jahren, dass Mitglieder der Kation-Chlorid-Kotransporter (CCC)-Familie Slc12 eine essenzielle Rolle für die neuronale Chloridregulation spielen (Payne et al. 2003). Die Familie besteht aus insgesamt neun Mitgliedern, von denen sieben für Transporter codieren, die  $Cl^-$  in einem Kotransport mit Kationen über die Plasmamembran transportieren. Diese Transporter sind sekundär-aktiv, das heißt, sie verbrauchen nicht direkt ATP. Sie nützen stattdessen die durch die  $Na^+/K^+$ -ATPase aufgebauten Gradienten für  $Na^+$  und  $K^+$  für den  $Cl^-$ -Transport aus. Die mit  $Cl^-$  transportierten Kationen werden durch die  $Na^+/K^+$ -ATPase wieder über die Plasmamembran zurücktransportiert, sodass durch die Aktivität der Kotransporter vorwiegend die  $[Cl^-]_i$  beeinflusst wird. Da die Kotransporter Anionen und Kationen im Verhältnis 1:1 über die Membran transportieren, verändern sie das Membranpotenzial nicht und sind daher elektroneutral.

Funktionelle Analysen ergaben, dass drei der Kotransporter, codiert von den Genen Slc12a1-3, den stark nach innen gerichteten  $Na^+$ -Gradienten verwenden, um Zellen mit  $Cl^-$  zu beladen. Es handelt sich dabei um den  $Na^+$ - $Cl^-$ -Kotransporter NCC sowie um die beiden

World Precision Instruments  
Laboratory Equipment for the Life Sciences

find your tools at...  
[www.wpi-europe.com](http://www.wpi-europe.com)

...or in the new  
Catalogue 2008  
available now!

T 030 6188845  
F 030 6188670  
E-mail [wpide@wpi-europe.com](mailto:wpide@wpi-europe.com)



## Exkurs 1

### Das enthemmte Gehirn

Kation-Chlorid-Kotransporter (CCCs) sind entscheidend am Gleichgewicht zwischen Exzitation und Inhibition im Nervensystem beteiligt. Dies hat in den letzten Jahren vermehrt dazu geführt, ihre Rolle bei neurologischen Erkrankungen, die auf Störungen in diesem Gleichgewicht zurückzuführen sind, zu untersuchen. In einigen Fällen wurde eine Beteiligung von CCCs an der Ätiologie nachgewiesen (De Koninck 2007).

Epilepsie ist auf eine exzessive Entladung von Neuronen zurückzuführen und zählt zu den häufigsten Erkrankungen des Zentralnervensystems. Etwa 1% der Bevölkerung erkrankt daran. Mehrere Untersuchungen wiesen eine Beteiligung von CCCs an epileptischen Anfällen nach. In Gehirngewebe von Patienten mit Temporallappen-Epilepsie wurde eine Subpopulation pyramidalen Zellen im Hippocampus identifiziert, die auf GABA mit einer Depolarisierung antworteten. Sie stellen mögliche Schrittmacherneurone für interiktale (d.h. zwischen den Anfällen vorkommende) Entladungen dar, die den epileptischen Anfällen vorangehen (Cohen et al. 2002). Während alle hyperpolarisierenden Pyramidenzellen KCC2 exprimierten, fehlte der Transporter in der Mehrheit der depolarisierenden Zellen (Huberfeld et al. 2007).

Ein gängiges experimentelles Tiermodell für Temporallappen-Epilepsie ist das hippocampale Kindling-Modell. Indem über einen längeren Zeitraum hinweg fokal im Hippocampus stimuliert wird, wird eine erhöhte Anfälligkeit für Anfälle erzielt. Derartig behandelte Mäuse zeigten in hippocampalen Pyramidenzellen eine erniedrigte Expression von KCC2 (Rivera et al. 2002). Diese Herunterregulation wird über einen vom Wachstumsfaktor BDNF (brain derived neurotrophic factor) und dessen Rezeptor TrkB (receptor tyrosine kinase B) vermittelten Signalweg erreicht (Rivera et al. 2004). Die Befunde stimmen mit Untersuchungen an KCC2-Knockdown-Mäusen überein. Diese zeigen in der kurzen postnatalen Lebensphase Übererregbarkeit und häufige spontane epileptische Anfälle (Woo et al. 2002). Interessanterweise führen auch Mutationen, die die Expression des einzigen KCC-Gens in *Drosophila melanogaster* mindern, zu einer erhöhten Anfälligkeit der Fliegen für epileptische Anfälle (Hekmat-Scafe et al. 2006).

Eine weitere Form von Anfällen mit Beteiligung von CCCs sind Neugeborenenkrämpfe. Diese treten in den ersten vier Lebenswochen auf und können schwerwiegende Folgen haben. Die bei Erwachsenen antikonvulsiv wirkenden Barbiturate und Benzodiazepine, die allosterisch die GABAerge Wirkung erhöhen, zeigen hier keine antiepileptische Wirkung. Dies ist sehr wahrscheinlich darauf zurückzuführen, dass GABA in den ersten Lebenswochen nicht hyper-

polarisierend, sondern depolarisierend wirkt. In Ratten fördert NKCC1 Anfälle im neonatalen Gehirn. Seine Blockade durch das Schleifendiuretikum Bumetanid führte zu einem Absinken der  $[Cl^-]_i$  in hippocampalen Neuronen. Die damit verbundene Verstärkung der GABAergen Inhibition führt zu einer Abnahme von kainatinduzierten epileptischen Anfällen (Dzhala et al. 2005).

Bei neuropathischem Schmerz, d.h. bei Schmerz, der durch geschädigte Nervenfasern ausgelöst wird und nicht durch Nozizeptoren vermittelt wird, wurde eine Beteiligung von KCC2 gezeigt. In Ratten führt die chronische Einschnürung des Ischiasnervs zu einer Enthemmung von Neuronen im Hinterhorn des Rückenmarks. Als Ursache wurde eine reduzierte KCC2-Expression in diesen Neuronen identifiziert (Coull et al. 2003). Durch die dadurch gestörte Chloridhomöostase wirkt GABA nicht mehr inhibierend, sondern depolarisierend. Die Reduktion von KCC2 wird dabei wahrscheinlich von aktivierter Microglia im Rückenmark ausgelöst und ist wie im Kindling-Modell für Epilepsie BDNF- und TrkB-vermittelt (Coull et al. 2005). Als Konsequenz dieser Befunde zur Enthemmung durch erhöhte NKCC1- oder verminderte KCC2-Aktivität im zentralen und peripheren Nervensystem erhalten die CCCs bei der Entwicklung neuer therapeutischer Ansätze zur Bekämpfung von Übererregbarkeit im Nervensystem einen immer höheren Stellenwert.

$Na^+K^+2Cl^-$ -Kotransporter NKCC1 und NKCC2. Während NCC und NKCC2 nur in der Niere vorkommen und dort an der tubulären Chloridresorption beteiligt sind, ist NKCC1 ubiquitär und somit auch im Nervensystem exprimiert. Wir werden auf ihn im Abschnitt „Welche Transporter erhöhen  $[Cl^-]_i$  in unreifen Neuronen?“ näher eingehen. Einen zweiten Arm der Familie bilden die vier Gene *Slc12a4-7*, die für  $K^+Cl^-$ -Kotransporter codieren. Diese nutzen den nach außen gerichteten  $K^+$ -Gradienten, um  $Cl^-$  in den extrazellulären Raum zu transportieren. KCC1, KCC3 und KCC4 zeigen dabei eine weit verbreitete Expression und sind wie NKCC1 unter anderem an der Osmoregulation beteiligt. In einem hypertonen Medium aktivieren Zellen NKCC1, um durch die erhöhte intrazelluläre Ionenkonzentration einen Wasserverlust zu vermeiden. Unter hypotonischen Bedingungen werden hin-

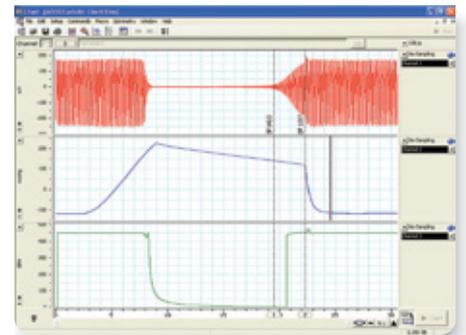
gegen KCCs aktiviert, um der erhöhten Wasseraufnahme entgegenzuwirken. Als einziger  $K^+Cl^-$ -Kotransporter ist KCC2 auch unter isotonischen Bedingungen aktiv. Er ist zudem das einzige Familienmitglied, das nur in Neuronen exprimiert ist und dessen Ausschalten in Mäusen zum Tod unmittelbar nach Geburt führt (Abbildung 2A, Hübner et al. 2001).

Neben den sieben transportaktiven Mitgliedern der CCC-Familie gibt es noch zwei orphanen Mitglieder. Ihre physiologische Rolle gibt ein Rätsel auf. Trotz intensiver Bemühungen wurde bisher keine Transportaktivität für sie nachgewiesen. Möglicherweise besitzen sie eine regulatorische Rolle. Alle CCCs sind in der Plasmamembran lokalisiert und besitzen zwölf Transmembrandomänen. Dabei ist der hydrophobe Mittelbereich flankiert von einem kurzen N-Terminus und einem längeren C-Terminus, die beide im Zytoplasma lokalisiert sind.

Wie bei vielen anderen Proteinen wird die Variabilität innerhalb der Familie durch alternatives Spleißen erhöht. Die Spleißvarianten der N(K)CCs betreffen den Transmembranbereich und den zytoplasmatischen C-Terminus, während bei den KCCs durch alternatives Spleißen die beiden zytoplasmatischen Termini variieren. Die Spleißvarianten sind differenziell exprimiert und unterscheiden sich in den Kinetiken des von ihnen vermittelten Transports, sowie in der Empfindlichkeit gegenüber pharmakologischen Inhibitoren und osmotischen Veränderungen. Eine erstaunliche Spleißvariante gibt es bei NKCC2. Eine verkürzte NKCC2-Variante mit einem abweichenden C-Terminus weist einen  $K^+$ -unabhängigen  $Na^+Cl^-$ -Kotransport auf und inaktiviert zudem die längere Spleißvariante, indem sie deren Oberflächenexpression verhindert (Plata et al. 1999).

**NEU!**

**Panlab**  
by Hugo Sachs



Seit über 30 Jahren zählt **Panlab** (früher Leticia) mit seinen maßgeschneiderten Produkt- und Softwareprogrammen zu den führenden Life Sciences-Unternehmen.

Nach der Übernahme des Unternehmens durch **Harvard Bioscience Inc.** im November 2007 gehören **Panlab**-Produkte ab sofort zum Portfolio der Hugo Sachs GmbH:

- Nicht-Invasive Blutdruck-Messung
- Systeme für die Verhaltensforschung
- O<sub>2</sub> / CO<sub>2</sub>-Messung
- Phänotypisierung von Kleintieren
- Belastungstest



Hugo Sachs Elektronik – Harvard Apparatus GmbH  
Grünstrasse 1 | D-79232 March-Hugstetten | Germany  
Tel (+49)(0) 76 65-92 00-0 | Fax 0 76 65-92 00-90  
Email sales@hugo-sachs.de

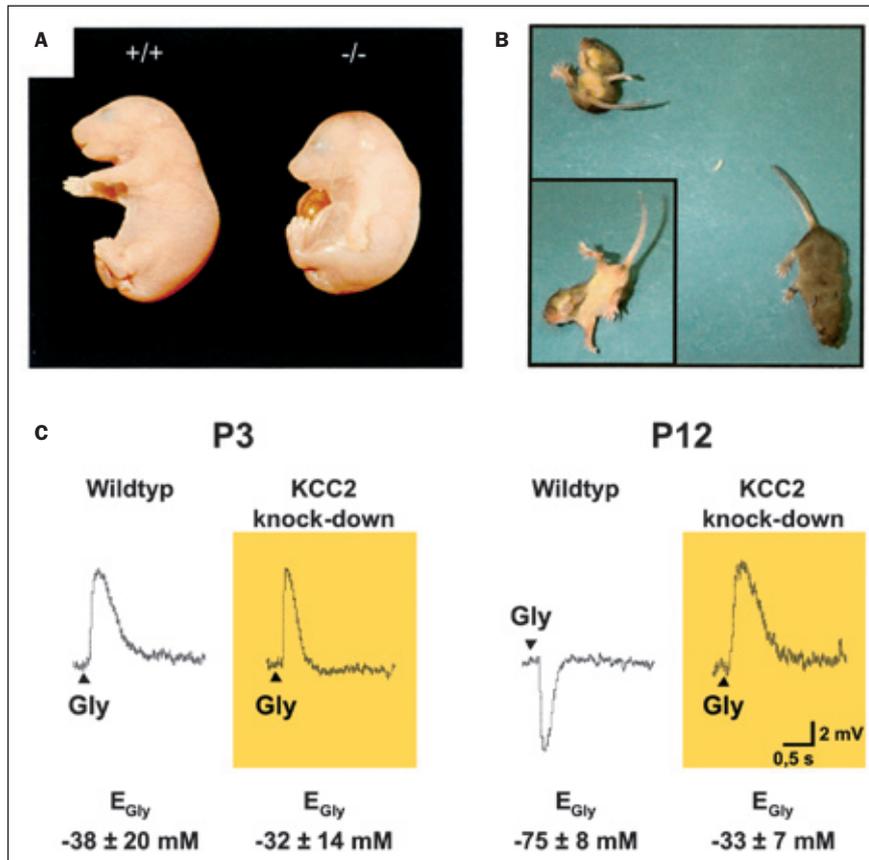
[www.hugo-sachs.de](http://www.hugo-sachs.de)

One solution | HARVARD APPARATUS | Your challenges

## Welcher Transporter ist für den Wechsel von Depolarisation zu Hyperpolarisation verantwortlich?

In der ersten Hälfte der 1990er Jahre ergaben mehrere elektrophysiologische und pharmakologische Experimente für alle untersuchten Modellsysteme im Nervensystem, dass der D-H-Wechsel während der Reifung des Nervensystems auf eine entwicklungsabhängige

Veränderung der [Cl<sup>-</sup>]<sub>i</sub> in den Neuronen zurückzuführen ist. Kurz darauf wurden die Kation-Chlorid-Kotransporter kloniert. Es drängte sich nahezu auf, ihre Rolle bei der entwicklungsabhängigen Chloridregulation näher zu analysieren. Die Gruppe um Claudio Rivera und Kai Kaila aus Helsinki konnte zeigen, dass für den D-H-Wechsel in hippocampalen Neuronen der neuronenspezifische Auswärtstransporter KCC2 essenziell



**Abb. 2: KCC2 spielt eine essenzielle Rolle in der neuronalen Chloridhomöostase.** (A) Mäuse, denen das für KCC2 codierende Gen komplett fehlt (KCC2-Knockout; -/-) sterben unmittelbar nach Geburt aufgrund motorischer Störungen, die unter anderem das respiratorische System betreffen. Ein bei den KCC2-Knockout-Mäusen häufig auftretendes Merkmal ist die Omphalozele (Fehlbildung der Bauchwand). (B) KCC2-Knockdown-Mäuse, die noch 5-10% der normalen KCC2-Expression aufweisen, überleben die ersten zwei – drei postnatalen Wochen. Im Vergleich zu Wildtyp-Mäusen (rechts unten dargestellt) sind sie kleiner und zeigen krampfartige Anfälle. (C) Elektrophysiologische Messungen an Neuronen der lateralen superioren Olive im auditorischen Hirnstamm zeigen den Einfluss von KCC2 auf die intrazelluläre Chloridkonzentration ([Cl<sup>-</sup>]<sub>i</sub>) und die darauf beruhende Glyzinwirkung. Gezeigt sind beispielhaft Ableitungen einzelner Zellen am Postnataltag (P) 3 und P12 in Wildtyp- und KCC2-Knockdown-Mäusen. Die Applikation von Glyzin (Gly) depolarisiert bei P3 das Wildtyp- und das KCC2-Knockdown-Neuron. Bis P12 hat im Wildtyp der Wechsel von Depolarisation zur Hyperpolarisation (D-H-Wechsel) stattgefunden, Glyzin löst also eine Hyperpolarisation aus. In den KCC2-Knockdown-Mäusen bleibt der D-H-Wechsel aus und Glyzin bewirkt auch bei P12 eine Depolarisation der Zelle. Während das Glyzin-Umkehrpotenzial ( $E_{Gly}$ ) als Indikator der intrazellulären Chloridkonzentration in den Wildtyp-Neuronen zwischen P3 und P12 deutlich absinkt, bleibt es in den KCC2-Knockdown-Mäusen unverändert (gezeigt sind die Mittelwerte aus Messungen an jeweils mindestens vier Zellen). Abbildungsteile modifiziert nach Hübner et al. 2001 (A), Woo et al. 2001 (B), Balakrishnan et al. 2003 (C).



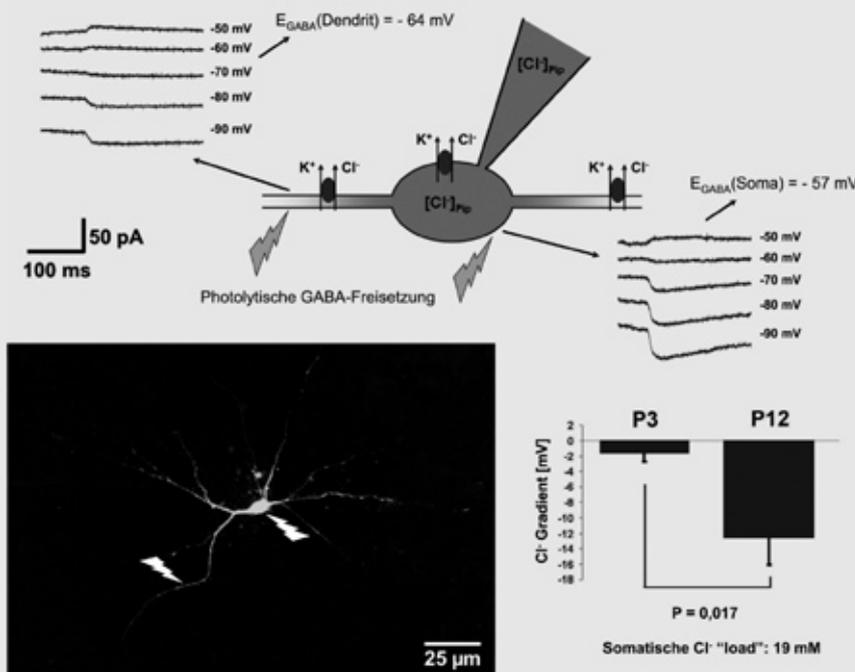
## Exkurs 2

### Die Last der Aktivitätsbestimmung

Die Transportaktivität von Kation-Chlorid-Kotransportern wird in Neuronen meist indirekt anhand der Bestimmung der nativen intrazellulären Chloridkonzentration ( $[Cl^-]_i$ ) beurteilt. Hier sollen zwei elektrophysiologische Methoden vorgestellt werden, die eine direkte Bestimmung der Transportaktivität erlauben. Bei der perforated patch clamp-Methode, einer Abwandlung einer klassischen whole cell patch clamp-Ableitung, wird der elektrische Zugang zur Zelle nicht durch das Aufreißen der Zellmembran hergestellt, sondern indem der Pipettenlösung Gramizidin zugegeben wird. Gramizidin verursacht Poren in der Zellmembran, die für monovalente Kati-

onen, nicht aber für  $Cl^-$  permeabel sind. Die  $[Cl^-]_i$  wird daher durch die Chloridkonzentration in der Pipette ( $[Cl^-]_{pip}$ ) nicht verändert und kann bestimmt werden. Unter steady-state Bedingungen kann aber kein Rückschluss auf die tatsächliche Transportaktivität von  $Cl^-$ -Transportern gezogen werden. Dies wird anhand eines Beispiels deutlich. Findet kein  $Cl^-$ -Einwärtstransport statt, reicht eine schwache  $Cl^-$ -Auswärtstransportaktivität aus, um die  $[Cl^-]_i$  niedrig zu halten. Eine identische  $[Cl^-]_i$  ergibt sich

aber ebenfalls bei der Kombination eines starken Einwärtstransports mit einem etwas stärkeren Auswärtstransport. Zur Bestimmung der tatsächlichen Transportaktivität müssen die Transporter unter einer möglichst definierten Last analysiert werden. Zur Charakterisierung eines  $Cl^-$ -Transporters sollte die  $[Cl^-]_i$  artifizell auf ein Maximum erhöht oder Minimum gesenkt werden. Dieses „Beladen“ oder „Entladen“ eines Neurons kann bei der perforated patch clamp-Methode erfolgen, indem GABA oder Glyzin wiederholt appliziert werden. Abhängig vom während der Applikation angelegten Kommandopotenzial kommt es zu einem Ein- oder Ausstrom von  $Cl^-$ . Der Zeitverlauf der Wiederherstellung der ursprünglichen  $[Cl^-]_i$  gilt als Maß für den  $Cl^-$ -Transport.



onen, nicht aber für  $Cl^-$  permeabel sind. Die  $[Cl^-]_i$  wird daher durch die Chloridkonzentration in der Pipette ( $[Cl^-]_{pip}$ ) nicht verändert und kann bestimmt werden. Unter steady-state Bedingungen kann aber kein Rückschluss auf die tatsächliche Transportaktivität von  $Cl^-$ -Transportern gezogen werden. Dies wird anhand eines Beispiels deutlich. Findet kein  $Cl^-$ -Einwärtstransport statt, reicht eine schwache  $Cl^-$ -Auswärtstransportaktivität aus, um die  $[Cl^-]_i$  niedrig zu halten. Eine identische  $[Cl^-]_i$  ergibt sich

transportern wurde in der Gruppe von Ulrich Misgeld in Heidelberg entwickelt (Jarolimek et al. 1999) und in Helsinki durch eine Gruppe um Kai Kaila für die Anwendung in Schnittpräparaten weiterentwickelt (Khirug et al. 2005). Hier werden die Neurone im whole cell-Modus mit einer definierten  $[Cl^-]_i$  beladen (siehe nebenstehende Abbildung). Nach dem Aufreißen der Zellmembran erfolgt eine Dialyse des Zytoplasmas durch die Pipettenlösung. Ausgehend vom Soma diffundiert  $Cl^-$  in die Dendriten und die

$[Cl^-]_i$  würde sich in Abwesenheit aktiver  $Cl^-$ -Transporter wie im Soma der  $[Cl^-]_{pip}$  angleichen. Sind jedoch effiziente  $Cl^-$ -Auswärtstransporter vorhanden, halten diese die  $[Cl^-]_i$  in den Dendriten niedriger als die  $[Cl^-]_{pip}$ . Die Transportaktivität führt dann zur Ausbildung eines  $Cl^-$ -Gradienten zwischen den Dendriten und dem Soma. Dieser Gradient stellt ein direktes Maß für den  $Cl^-$ -Auswärtstransport dar. Um diesen Gradienten zu ermitteln, muss sequenziell am Soma und, in einem definierten Abstand zum Soma, an einem Dendriten das  $Cl^-$ -Umkehrpotenzial ( $E_{Cl}$ ) bestimmt werden. Dies erfolgt durch die Bestimmung der GABA- bzw. Glyzin-Umkehrpotenziale, die annäherungsweise  $E_{Cl}$  entsprechen. In dissoziierten neuronalen Kulturen wird hierzu GABA oder Glyzin mittels einer dünn ausgezogenen zweiten Pipette sequenziell am Soma und am Dendrit appliziert. In Schnittpräparaten erfordert die Gradientenbestimmung einen höheren technischen Aufwand. Zum einen müssen die Zellen über die Pipettenlösung angefärbt werden, um die Dendriten ausgehend vom Soma über eine definierte Distanz verfolgen zu können. Zum anderen ist es im Schnittpräparat nicht möglich, eine Applikationspipette vom Soma zu einem Dendriten zu bewegen, ohne Erschütterungen im Schnitt zu verursachen. Dies führt meist zum Verlust der Ableitung. Einen Ausweg bietet die Applikation von chemisch inaktiviertem GABA (caged-GABA) über die Badlösung. Die Aktivierung des caged-GABA erfolgt über einen fokalen Laserpuls. Dies erlaubt die Bestimmung der lokalen  $E_{GABA}$  am Soma und am Dendrit. Im Bild eines angefärbten Neurons der lateralen superioren Olive (LSO) sind die Positionen der photolytischen GABA-Freisetzung mit Blitzsymbolen angedeutet (links unten in der Abbildung). Der rechte untere Teil der Abbildung zeigt beispielhaft die Ergebnisse einer Gradientenmessung in LSO-Neuronen am Postnataltag (P)3 und P12. In P3-Neuronen kann kein signifikanter Unterschied zwischen den  $E_{GABA}$  am Soma und am Dendrit festgestellt werden. In P12-Neuronen bildet sich hingegen ein deutlicher  $Cl^-$ -Gradient aus und die Differenz zwischen den  $E_{Cl}$  am Soma und am Dendrit beträgt 12,6 mV. Die  $Cl^-$ -Gradienten bei P3 und P12 sind statistisch signifikant unterschiedlich, ihnen zufolge findet nur bei P12 ein effizienter  $Cl^-$ -Auswärtstransport statt. Abbildung modifiziert nach Blaesse et al. 2006.

ist (Rivera et al. 1999). Expressionsanalysen zeigten eine sehr niedrige Expression in unreifen Neuronen und eine reichliche Expression in reifen Neuronen (Abbildung 4). Im entscheidenden Experiment wurde die funktionelle Bedeutung dieser entwicklungsabhängigen KCC2-Hochregulation getestet, indem die Menge an KCC2-mRNA in sich entwickelnden hippocampalen Schnittkulturen durch Zugabe von KCC2-Antisense-Oligonukleotiden reduziert wurde. Kurze Oligonukleotide verringern dabei die Menge an Ziel-Protein, indem sie unter anderem durch die Bindung an die entsprechende mRNA die Translation an den Ribosomen behindern oder den Abbau der mRNA beschleunigen. Dieses Experiment führte zum Ausbleiben des D-H-Wechsels und demonstrierte zum ersten Mal die entscheidende Rolle eines CCCs für die neuronale Chloridhomöostase.

Unsere eigenen Studien im auditorischen System bestätigten den Befund, dass KCC2 für den D-H-Wechsel in Neuronen essenziell ist (Balakrishnan et al. 2003). Untersuchungsmodell waren dabei Neurone der lateralen superioren Olive (LSO), einer auditorischen Struktur im Hirnstamm, die starke inhibitorische Eingänge erhält. Diese sind wichtig für die Schalllokalisierung. Wir nutzten für unsere Untersuchungen den glücklichen Umstand, dass Eric Delpire in Nashville beim Versuch, KCC2 in der Maus vollständig auszuschalten, Mäuse generierte, die noch 5-10% KCC2 exprimieren (Woo et al. 2001). Diese Knockdown-Mäuse (partiell ausgeschalteter KCC2) überleben im Gegensatz zu Knockout-Mäusen (vollständig ausgeschalteter KCC2) die ersten zwei-drei postnatalen Wochen und stehen somit für Analysen in der frühen postnatalen Phase zur Verfügung (Abbildung 2B). Während Neurone aus Wildtyp-Mäusen den D-H-Wechsel zwischen Postnataltag (P)3 und P12 vollziehen, blieb dieser in LSO-Neuronen der KCC2-Knockdown-Mäuse aufgrund einer erhöhten  $[Cl^-]_i$  bis P12 aus (Abbildung 2C). Diese Ergebnisse zeigten uns, dass KCC2 auch in LSO-Neuronen, wie übrigens in allen bis heute untersuchten Neuronen, entscheidend für das entwicklungsabhängige Absinken von  $[Cl^-]_i$  während der Reifung inhibitorischer Synapsen ist.

### Unterschiedliche Mechanismen der entwicklungsabhängigen KCC2-Aktivierung

Völlig überraschend für uns ergaben immunhistochemische Doppelfärbungen, dass, abweichend zum Hippocampus, schon unreife LSO-Neurone reichlich KCC2 in der Plasmamembran aufweisen (Abbildung 3A). Dies wurde durch elektronenmikroskopische Untersuchungen bestätigt (Blaesse et al. 2006). Auch eine biochemische Methode, die Oberflächenmarkierung mittels eines reaktiven Biotins, erbrachte dasselbe Resultat. Bei diesem Experiment wurden Hirnstammschnitte reaktivem Biotin ausgesetzt, welches die Plasmamembran nicht durchdringen und somit nur an Proteine der Zelloberfläche binden kann. Die biotinylierten Proteine wurden anschließend mittels der Affinität von Biotin zu Streptavidin isoliert und über Immunoblotanalysen quantifiziert. Dieses Experiment bestätigte, dass die überwiegende Menge von KCC2 sowohl in unreifen als auch reifen Hirnstammschnitten in der Plasmamembran vorliegt (Abbildung 3B). Wir untersuchten daher auch P3-LSO-Neurone aus der KCC2-Knockdown-Maus, um die Rolle des Transporters in unreifen Neuronen zu analysieren. Elektrophysiologische Analysen zeigten jedoch, dass KCC2 dort keinen Einfluss auf  $[Cl^-]_i$  nimmt (Abbildung 2C). Im Exkurs 2 ist ein weiterer elektrophysiologischer Ansatz beschrieben, mit dem die Abwesenheit eines KCC2-vermittelten  $Cl^-$ -Transports

in unreifen LSO-Neuronen bestätigt wurde. Wir mussten aus diesen Ergebnissen lernen, dass KCC2 in der Plasmamembran unreifer LSO-Neurone transport-inaktiv vorliegt.

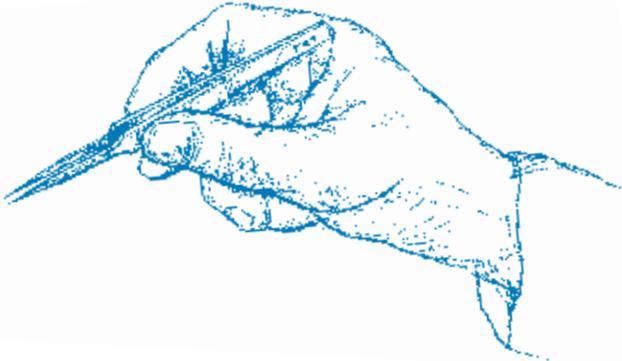
### Wie wird KCC2 posttranslational reguliert?

Um dem molekularen Mechanismus auf die Spur zu kommen, der KCC2 in jungen LSO-Neuronen in der Plasmamembran transportinaktiv hält, untersuchten wir die strukturelle Organisation des Transporters. Vorangegangene Arbeiten hatten gezeigt, dass CCCs als Oligomere vorliegen können. So bilden beispielsweise N(K)CCs Dimere (Moore-Hoon und Turner 2000). Auch im Falle von KCC2 zeigten Immunoblotanalysen des reifen Hirnstamms hochmolekulare Signale, welche ihrem Molekulargewicht nach oligomeren Transportern in Form von Dimeren, Trimeren und Tetrameren entsprechen (Abbildung 4). Eine kritische Frage bei Oligomeren ist immer, ob sie Homomere oder Hetero-Oligomere unterschiedlicher Proteine darstellen. Um diese Frage für KCC2 anzugehen, wurden zwei verschieden markierte KCC2-Fusionsproteine hergestellt. Das eine enthielt ein Polyhistidin und das andere eine Hämagglutinin-Sequenz (HA) am N-Terminus des Transporters. Die Konstrukte wurden zusammen in HEK293-Zellen exprimiert. Anschließend wurde His-KCC2 über seine Affinität zu einer nickelhaltigen Matrix isoliert. Allein bindet HA-markierter KCC2 nicht an die Matrix. Immunoblotanalysen zeigten, dass in Anwesenheit von His-KCC2 auch HA-markierter KCC2 über die nickelhaltige Matrix aufgereinigt werden kann und somit HA-



FINE SCIENCE TOOLS

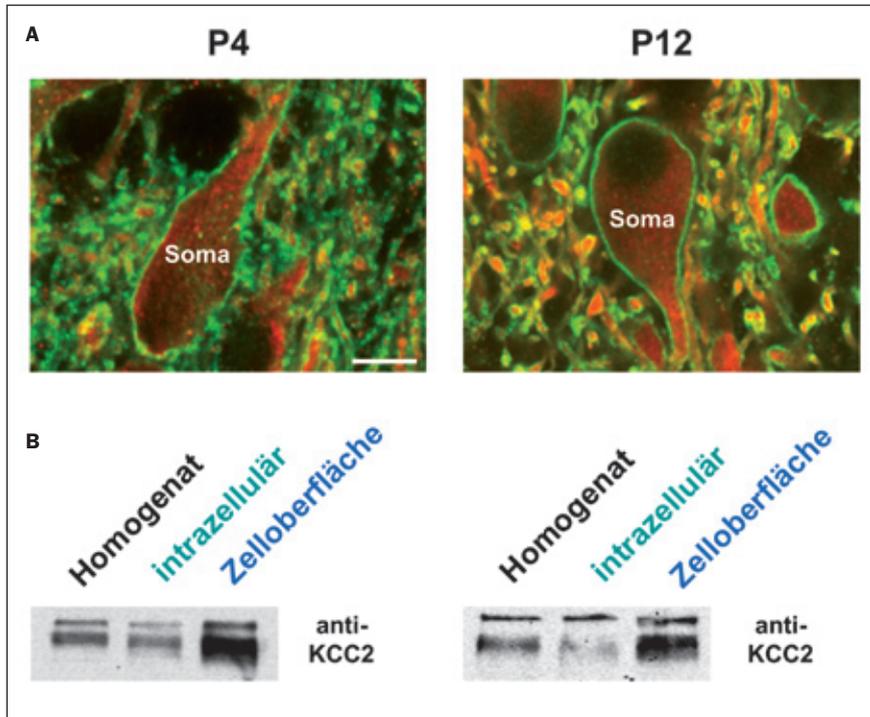
FINE SCIENCE TOOLS GMBH  
IM WEIHER 12  
D-69121 HEIDELBERG, GERMANY  
TEL: +49 (0) 6221 90 50 50  
FAX: +49 (0) 6221 90 50 590  
WEB: WWW.FINESCIENCE.DE



We provide your **skilled** hands with  
the **precision** instruments you need.

finescience.de

FINE SURGICAL INSTRUMENTS FOR RESEARCH™



**Abb. 3: KCC2 ist bereits in unreifen LSO-Neuronen in der Plasmamembran lokalisiert. (A)** Immunhistochemische Färbungen für KCC2 (grün) und den Dendriten-Marker MAP2 (rot) in der lateralen superioren Olive (LSO) am Postnaltag (P) 4 und P12 zeigen, dass KCC2 bereits im frühen Altersstadium vorhanden ist. In beiden Altersstadien beschränkt sich die KCC2-Immunreaktivität auf die Oberfläche der Somata und Dendriten, die durch die MAP2-Immunreaktivität identifiziert wurden. **(B)** Ein Biotinylierungsexperiment mit P4- und P12-Hirnstammschnitten zeigt, dass das KCC2-Signal in der Fraktion der biotinylierten Proteine (Zelloberfläche) in beiden Altersstadien ähnlich ist. Auch in der Gesamtfraction (Homogenat) und in der Fraktion intrazellulärer Proteine sind die KCC2-Signale in beiden Altersstadien ähnlich. Ein entwicklungsabhängiger Anstieg der Oberflächenexpression kann durch dieses Experiment ausgeschlossen werden. Größenbalken: 10 µm. Abbildungsteil A modifiziert nach Blaesse et al. 2006.

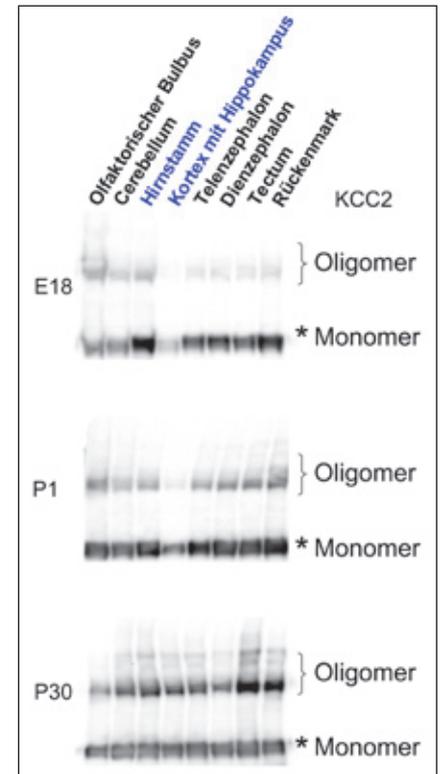
KCC2 und His-KCC2 physikalisch interagieren (Blaesse et al. 2006). Dies werten wir als starken Hinweis, dass die von uns identifizierten KCC2-Komplexe Homomere darstellen.

Uns interessierte im Folgenden vor allem, ob die KCC2-Oligomerisierung sich entwicklungsabhängig ändert. Wir führten Immunoblotanalysen durch, die zeigten, dass KCC2 im unreifen Hirnstamm (E18, P1) wie im reifen Hirnstamm (P30) gleichzeitig als Monomer und in Form höhermolekularer Komplexe vorhanden ist (Abbildung 4). Interessanterweise verändert sich jedoch das Verhältnis von monomerem KCC2 zu oligomerem KCC2 während der Entwicklung von ~7 im unreifen zu 0,5 im reifen Hirnstamm, wie eine quantitative Auswertung mehrerer unabhängiger Immunoblots ergab (Blaesse et al. 2006). Im unreifen Hirnstamm ist KCC2 somit überwiegend als Monomer vorhanden, während im reifen Hirnstamm Oligomere die dominante strukturelle Einheit von

KCC2 darstellen. Dieser Befund stimmt mit Schlussfolgerungen anderer Arbeitsgruppen überein, dass Oligomere die funktionelle Einheit von CCCs darstellen und Monomere nicht transportaktiv sind. Eine entwicklungsabhängige Oligomerisierung erhielten wir auch für viele andere Hirnregionen (Abbildung 4). Die einzige markante Ausnahme stellte der Kortex zusammen mit dem Hippocampus dar. Hier ist perinatal im Vergleich zu P30 insgesamt nur wenig KCC2-Protein vorhanden. Die dominierende Form bei P30 bilden aber auch hier die Oligomere. Wir schließen daraus, dass die posttranslationale Regulation der KCC2-Aktivität im Gehirn einen weit verbreiteten Mechanismus während der Entwicklung darstellt.

Der Befund von transportinaktivem KCC2 in der Plasmamembran unreifer Neurone ist in zweifacher Hinsicht für die Analyse der Chloridregulation interessant. Er zeigt, dass es ganz verschiedene Regulationsmechanismen bei der KCC2-Aktivierung gibt: einmal

auf transkriptioneller Ebene und einmal auf posttranskriptioneller Ebene (Abbildung 5). Warum es diese zwei verschiedenen Regulationsprinzipien gibt, ist noch völlig ungeklärt. Zudem ist er ein schönes Beispiel dafür, dass die korrekte Lokalisation eines Proteins noch keinen Aufschluss über seine Funktionalität gibt. Dies bedeutet konkret für KCC2, dass der Nachweis des Transporters in der Plasmamembran kein ausreichendes



**Abb. 4: KCC2 oligomerisiert im Hirnstamm und in anderen Hirnregionen entwicklungsabhängig. Die Analyse von Proteinfractionen aus acht unterschiedlichen Hirnregionen zeigt, dass die entwicklungsabhängige Oligomerisierung von KCC2 ein weit verbreitetes Phänomen im Zentralnervensystem ist. Wie im Hirnstamm tritt auch in den anderen Regionen die KCC2-Immunreaktivität schon am Embryonaltag (E) 18 mit einer zu späteren Entwicklungsstadien (Postnaltag 1 und 30) ähnlichen Intensität auf. Entwicklungsabhängig kommt es hauptsächlich zu einem Anstieg der Intensität der KCC2-Signale im höhermolekularen Bereich, welcher KCC2-Oligomeren entspricht. Eine Ausnahme bildet die Kortexprobe mit dem darin enthaltenen Hippocampus. Hier ist ein deutlicher Anstieg der Gesamtintensität der KCC2-Signale zwischen E18 und P30 zu erkennen. Abbildung modifiziert nach Blaesse et al. 2006.**

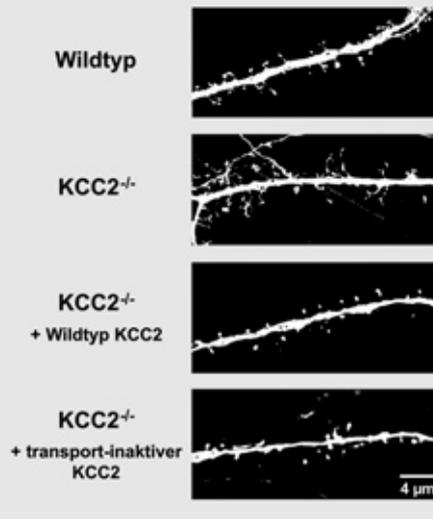


## Exkurs 3

### Ein erregendes Doppelleben

Der in Neuronen über einen langen Zeitraum transportinaktiv vorhandene KCC2 gab Rätsel auf. Kürzlich wurde jedoch gezeigt, dass das Protein zu den sogenannten multifunktionellen Proteinen zählt, die physiologisch ganz unterschiedliche Aufgaben erfüllen. In Kultur zeigten isolierte kortikale Neurone aus KCC2-Knockout-Mäusen (KCC2<sup>-/-</sup>) im Vergleich zu Neuronen aus Wildtyp-Mäusen eine abnormale Morphologie der dendritischen Dornen (Li et al., Neuron, 2007; siehe Abbildung). Die KCC2<sup>-/-</sup>-Neurone bildeten dünne filopodienähnliche Fortsätze aus. Diese Fehlbildung beruht nicht auf der fehlenden KCC2-Transportaktivität und der dadurch veränderten GABAergen Transmission, wie Experimente mit einer verkürzten, transportinaktiven KCC2-Mutante zeigten. Ebenso wie die Überexpression des transportaktiven Wildtyp-KCC2 stellt die Überexpression dieser transportinaktiven Mutante in KCC2<sup>-/-</sup>-Kulturen den Wildtyp-Phänotyp mit normalen Dornen wieder her. Die Dornen erhalten danach auch wieder aktive synaptische Eingänge. Abnorme dendritische Dornen wurden

zudem im Hippocampus von KCC2-Knockdown-Mäusen nachgewiesen. KCC2 wirkt somit in hippocampalen Neuronen als morphogener Faktor für exzitatorische Synapsen und trägt dadurch zur Synchronisation der Reifung von inhibitorischen und exzitatorischen Synapsen bei. Die morphogene Funktion von KCC2 scheint die Interaktion mit Zytoskelettbestandteilen der dendritischen Dornen wie dem Protein 4.1N zu erfordern. Abbildung modifiziert nach Li et al. (2007).



Kriterium darstellt, um auf seine Beteiligung an der Chloridhomöostase zu schließen.

Eine spannende Frage, die aus unseren Befunden erwächst, betrifft die Regulation der Oligomerisierung. Um sie zu beantworten, versuchen wir zurzeit, KCC2 Interaktionspartner zu identifizieren und zu charakterisieren sowie den KCC2-Komplex aus unreifem und reifem Gewebe nativ darzustellen und zu analysieren. Außerdem stellt sich die Frage nach dem Grund für einen transportinaktiven Transporter in der Plasmamembran, da für den D-H-Wechsel keine schnelle Aktivierung von KCC2 notwendig ist. Dies ist umso erstaunlicher, da KCC2 eine sehr kurze Halbwertszeit von weniger als einer halben Stunde aufweist (Rivera et al. 2004). Denn obwohl der Transporter im auditorischen Hirnstamm erst im Verlauf der zweiten postnatalen Woche voll aktiv ist, wird er über einen Zeitraum von mehr als einer Woche synthetisiert und wieder abgebaut, ohne dass auf seine Transportaktivität zurückgegriffen wird. Bei einem Protein von über 1100 Aminosäuren ein wahrhaft kostspieliges Unterfangen! Dies legt die Vermutung nahe, dass KCC2 zu der expandierenden Gruppe multifunktionaler Proteine (moonlighting proteins, Jeffery 2003) gehört, die mehrere grundlegend verschiedene

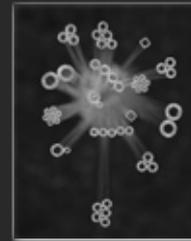
Funktionen in einer Zelle ausüben können. Spektakuläre Hinweise auf eine Doppelrolle von KCC2 liefern aktuelle Befunde der finnischen Gruppe um Claudio Rivera und Kai Kaila, die zeigen, dass KCC2 einen morphogenen Faktor für die korrekte Entwicklung von dendritischen Dornen in Neuronen darstellt (siehe Exkurs 3; Li et al. 2007).

### Veränderungen der [Cl<sup>-</sup>]<sub>i</sub> nach Abschluss des D-H-Wechsels

KCC2 ist nicht nur entscheidend am D-H-Wechsel während der Entwicklung beteiligt, sondern auch von zentraler Bedeutung für Veränderungen der [Cl<sup>-</sup>]<sub>i</sub> nach Abschluss des D-H-Wechsels. Diese Veränderungen treten unter verschiedenen physiologischen und pathologischen Bedingungen auf (siehe Exkurs 1). Hierzu zählen beispielsweise bestimmte Formen neuronaler Aktivität (Woodin et al. 2003), Nervenverletzungen (Nabekura et al. 2002), oxidativer Stress (Wake et al. 2007), Albinismus (Barmashenko et al. 2005) und, für uns besonders interessant, einige Tiermodelle für Taubheit (Vale und Sanes 2002 und eigene Daten). Unter diesen Bedingungen kommt es zu einer Inaktivierung von KCC2 und

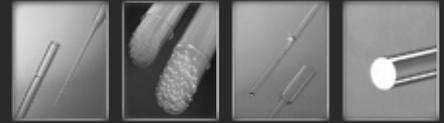
glas für  
wissenschaft  
labor  
industrie  
medizin  
technik

**hilgenberg**



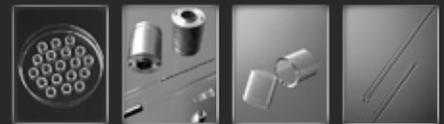
### Glaskapillaren

in verschiedenen Formen, Längen & Glasarten bestens geeignet zur Herstellung von Mikropipetten und Mikroelektroden



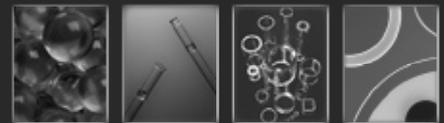
### Mikropipetten

vorgezogene Mikropipetten und Mikroelektroden gefertigt nach Ihren Wünschen aus hochwertigem Borosilicatglas oder Sondergläsern



### Füllnadeln

Spezialnadeln aus Glas mit Luer-Anschluss. Ideal zum blasenfreien Befüllen von Mikropipetten bis in die Spitze



- Kapillaren & Fasern
- Rohre & Stäbe
- Füllkörper
- Pasteur- & Sonder-Pipetten
- Schaugläser & Plättchen
- Probenbehälter & NMR-Tubes
- und vieles mehr...



[www.hilgenberg-gmbh.de](http://www.hilgenberg-gmbh.de)



[info@hilgenberg-gmbh.de](mailto:info@hilgenberg-gmbh.de)



+49 (0) 5661 7303-0



-11



in Folge zu einem Anstieg der  $[Cl^-]_i$ . Dabei kann es sogar zur länger andauernden Umkehrung des Chloridstroms kommen. Dieser Vorgang wird meist als Rekapitulation der Entwicklung angesehen. Durch das Absinken der  $[Cl^-]_i$  erhalten GABA und Glyzin eine depolarisierende Wirkung. Hierdurch können die inhibitorischen Eingänge wieder  $Ca^{2+}$ -Kaskaden auslösen, die eine strukturelle und funktionelle Modifizierung oder Regeneration der neuronalen Netzwerke ermöglichen. Die KCC2-Inaktivierung erfolgt bei diesen Vorgängen, ähnlich wie die entwicklungsabhängige KCC2-Aktivierung, durch unterschiedliche Mechanismen. Der Effekt bestimmter neuronaler Aktivitätsmuster auf KCC2 tritt innerhalb von fünf bis zehn Minuten ein, es handelt sich also um eine schnelle Inaktivierung auf Proteinebene (Fiumelli et al. 2005). Die bisherigen Ergebnisse zeigen, dass die Proteinkinase C eine entscheidende Rolle spielt und deuten darauf hin, dass sich der Phosphorylierungszustand von KCC2 ändert. Unter oxidativem Stress wurde eine Veränderung der KCC2-Phosphorylierung

direkt nachgewiesen (Wake et al. 2007). Untersuchungen der KCC2-Expression nach Nervenverletzungen zeigten andererseits eine Abnahme auf mRNA-Ebene (Nabekura et al. 2002). Im Falle induzierter Taubheit wurde eine Regulation auf mRNA-Ebene und auf Proteinebene beschrieben. Es ist zu vermuten, dass meist beide Regulationsmechanismen, Veränderungen auf transkriptioneller und auf posttranslationaler Ebene, Hand in Hand auftreten. Kurzfristige Veränderungen im Minutenbereich können nur posttranslational erzielt werden. Bei langfristigen Veränderungen ist es jedoch energetisch sinnvoll, die mRNA-Expression dem Bedarf an aktivem Protein anzupassen.

#### Welche Transporter erhöhen $[Cl^-]_i$ in unreifen Neuronen?

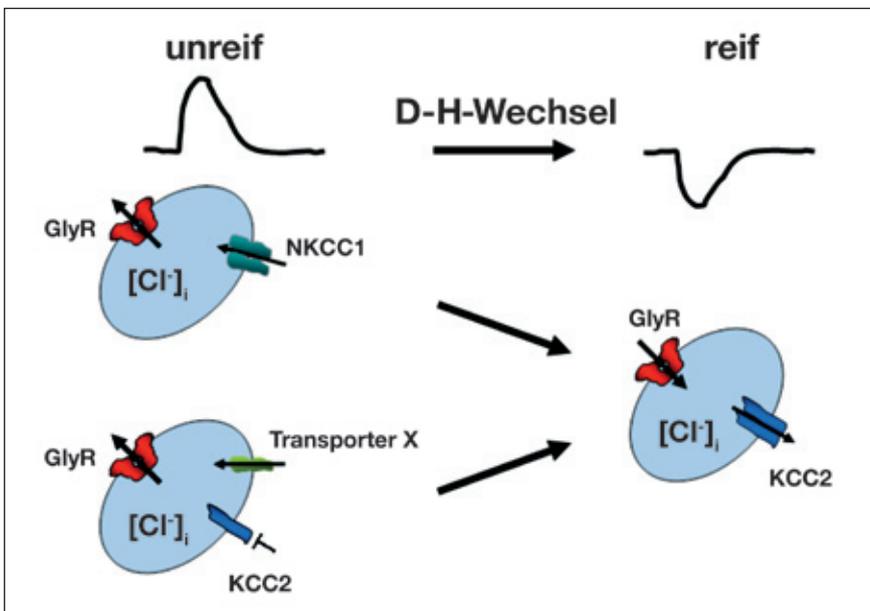
Auch die molekularen Mechanismen der Chloridbeladung von Neuronen sind überraschend uneinheitlich. Immunhistochemische Studien zeigten für den Kortex in der ersten postnatalen Woche eine Zunahme, danach

eine graduelle Abnahme der NKCC1-Immunreaktivität (Plotkin et al. 1997). Aufgrund dieses Expressionsverlaufs wurde NKCC1 als der  $Cl^-$ -Einwärtstransporter in unreifen Neuronen angesehen. Weitere Untersuchungen in kortikalen Hirnbereichen der Ratte zeigten, dass die NKCC1-Aktivität, da GABA durch sie depolarisierend wirken kann, Anfälle im neonatalen Hippocampus fördert (Dzhala et al. 2005 und Exkurs 1). Außerdem kann eine aktive  $Cl^-$ -Aufnahme in unreifen Neuronen des Neokortex durch Bumetanid, ein Schleifendiuretikum, welches in niedrigen Konzentrationen spezifisch NKCC1 inhibiert, bzw. durch  $Na^+$ -freie Lösungen verhindert werden (Achilles et al. 2007). Somit ist NKCC1 entscheidend an der  $Cl^-$ -Beladung unreifer Neurone im Kortex beteiligt. Wir mussten jedoch lernen, dass dieser Mechanismus nicht ubiquitär konserviert ist (Abbildung 5). So wird der Transporter überraschenderweise zwar in reifen LSO-Neuronen exprimiert, nicht aber in den unreifen LSO-Neuronen (Balakrishnan et al. 2003). Er kann somit nicht zur Beladung der unreifen Neurone mit  $Cl^-$  beitragen. Auch in der Retina ist NKCC1 nur in den glialen Müllerzellen vorhanden und spielt daher keine Rolle für die hohe  $[Cl^-]_i$  in jungen Ganglienzellen und den Amakrinzellen (Zhang et al. 2007). Welcher Transporter in diesen Bereichen des Nervensystems unreife Neurone mit  $Cl^-$  belädt, konnte noch nicht geklärt werden.

#### Zahlreiche Proteine regulieren Kation-Chlorid-Kotransporter

Die Aktivität vieler Proteine wird durch ihren Phosphorylierungsstatus reguliert. CCCs bilden dabei keine Ausnahme. Auch sie werden entscheidend von Kinasen und Phosphatasen beeinflusst (Laufer und Adragna 2000; Kahle et al. 2006). In der Regel werden durch Phosphorylierungen N(K)CCs aktiviert und KCCs inaktiviert (Abbildung 6). Dieser reziproke Effekt lässt sich im Hinblick auf die entgegengesetzten Aufgaben der Transporter bei der Osmoregulation leicht verstehen.

Anfangs wurden mit Phosphataseinhibitoren wie dem Serin/Threonin-Phosphataseinhibitor Calyculin A und Kinaseinhibitoren wie Staurosporin die Effekte von Phosphorylierungen untersucht. Vor wenigen Jahren gelang der Gruppe um Eric Delpire unter Verwendung des Hefe-2-Hybridsystems die Identifizierung der ersten Kinase, die direkt mit CCCs interagiert (Piechotta et al. 2002, 2003). Es handelt sich dabei um die Serin/Threoninkinase SPAK. Bald danach wurden weitere Kinasen wie WNK3, WNK4, Proteinkinase C und die gehirnspezifische Creatinkinase B identifiziert, die die Aktivität von CCCs in



**Abb. 5:** Der Depolarisation-Hyperpolarisation-Wechsel beruht auf der entwicklungsabhängigen Aktivität von Chlorid-Transportern. Die meisten inhibitorischen Synapsen vollziehen im Laufe der Entwicklung einen Wechsel von einer durch GABA oder Glyzin ausgelösten Depolarisation zu einer Hyperpolarisation (D-H-Wechsel). Dieser beruht auf Veränderungen der intrazellulären Chloridkonzentration ( $[Cl^-]_i$ ), die durch aktive Transporter reguliert wird. In einigen Systemen fungiert der  $Na^+$ - $K^+$ - $2Cl^-$ -Kotransporter NKCC1 vor dem D-H-Wechsel als  $Cl^-$ -Einwärtstransporter und wird während der Entwicklung in der Expression herunterreguliert. In anderen Systemen ist der  $Cl^-$ -Einwärtstransporter noch nicht identifiziert. Der  $K^+$ - $Cl^-$ -Kotransporter KCC2 ist in allen untersuchten Systemen, die einen D-H-Wechsel vollziehen, für den  $Cl^-$ -Auswärtstransport in reifen Neuronen verantwortlich. Die Regulation von KCC2 kann einerseits über eine entwicklungsabhängige Steigerung der Expression erfolgen. Daneben gibt es in vielen Hirnregionen eine posttranslationale Regulation von KCC2. Der Transporter liegt dabei in unreifen Neuronen als transportinaktives Monomer vor. Altersabhängig kommt es zu einer Oligomerisierung, die mit der Aktivierung korreliert.

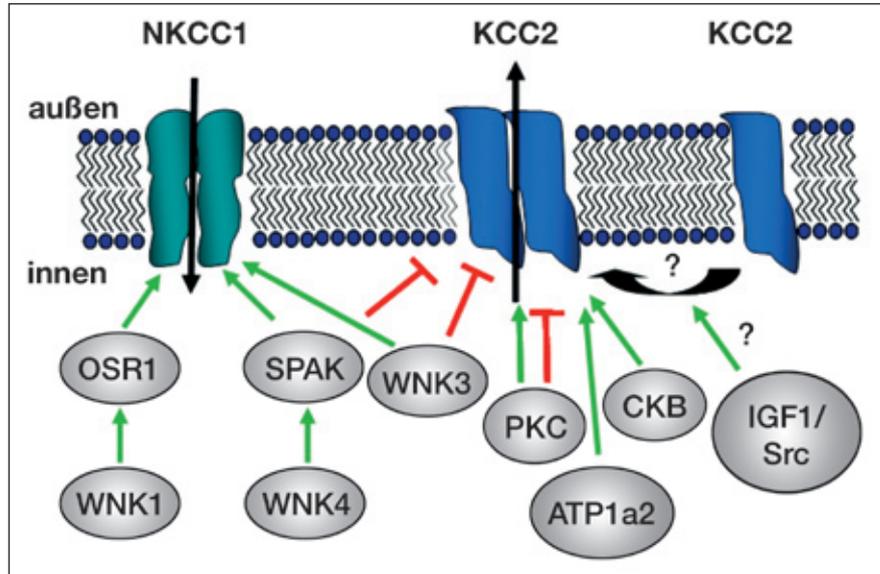
heterologen Expressionssystemen modulieren (Gagnon et al. 2006; Kahle et al. 2006; Lee et al. 2007; zusammengefasst in Abbildung 6). Bisher ist die Phosphorylierungsstelle jedoch nur für die Proteinkinase C identifiziert. Sie phosphoryliert das Serin an Position 940 in der KCC2 Aminosäuresequenz. Eine direkte und umfassendere Identifizierung weiterer Phosphorylierungsstellen steht noch aus und ist eine der großen Herausforderungen in naher Zukunft. Erst die genaue Analyse einzelner Phosphorylierungsstellen mithilfe spezifischer Antikörper oder durch die Analyse mutierter Phosphorylierungsstellen ermöglicht es, die Wirkungsweise und physiologische Rolle der einzelnen Kinasen im Gewebe aufzuklären.

Die Aktivität von CCCs wird jedoch nicht nur durch Phosphorylierungsprozesse reguliert. Eine sehr interessante Entdeckung war die Interaktion von KCC2 mit der Na<sup>+</sup>/K<sup>+</sup>-ATPase  $\alpha$ 2-Untereinheit Atp1a2. In Mäusen ohne Atp1a2 ist die KCC2-Aktivität beeinträchtigt (Ikeda et al. 2004). Da es sich bei KCC2 um einen sekundär-aktiven Transporter handelt, ist der durch die Na<sup>+</sup>/K<sup>+</sup>-ATPase generierte K<sup>+</sup>-Gradient essenziell für die KCC2-Transportaktivität. Die direkte Interaktion der beiden Proteine ermöglicht anscheinend eine sehr effiziente Kopplung der beiden Transportprozesse.

Wir erwarten, dass in Zukunft noch zahlreiche andere Protein-Proteininteraktionen identifiziert werden, die die Aktivität der Transporter regulieren. So sind beispielsweise die Phosphatasen, die die Dephosphorylierungen an CCCs durchführen, noch nicht identifiziert worden. Weiterhin ist bisher kaum etwas über die Assemblierung der oligomeren Transporter sowie ihre Beförderung zur und Entfernung aus der Plasmamembran bekannt. Eine ebenfalls bedeutsame Frage ist, warum im Vergleich zur zentralen und ubiquitären Regulation der intrazellulären Na<sup>+</sup>- und K<sup>+</sup>-Konzentration durch die Na<sup>+</sup>/K<sup>+</sup>-ATPase, die Chloridregulation in verschiedenen Neuronen so unterschiedlich geregelt ist. Wir stehen wohl insgesamt erst am Anfang der Erforschung der entwicklungs- und aktivitätsabhängigen Chloridregulation, und dieses Forschungsgebiet wird ohne Zweifel noch einige überraschende Befunde für uns bereithalten. Unser Motto bleibt deshalb: Hemmung erregt!

**Literatur**

Balakrishnan, V., Becker, M., Löhke, S., Nothwang, H.G., Guresir, E. und Friauf, E. (2003): Expression and function of chloride transporters during development of inhibitory neurotransmission in the auditory brainstem. *J Neurosci* 23: 4134-4145.



**Abb. 6:** Die bisher für die Kation-Chlorid-Kotransporter NKCC1 und KCC2 bekannten Regulationsmechanismen sind sehr komplex. Während der letzten Jahre wurden mehrere Proteine identifiziert, die einen Einfluss auf die Transportaktivität von NKCC1 und KCC2 haben. Dabei handelt es sich hauptsächlich um Kinasen. Eine Ausnahme stellt die Na<sup>+</sup>/K<sup>+</sup>-ATPase Untereinheit  $\alpha$ 2 (ATP1a2) dar. Die Effekte der Kinasen auf NKCC1 und KCC2 sind reziprok. Im Allgemeinen wird NKCC1 durch Phosphorylierungen aktiviert, KCC2 hingegen inaktiviert. Dass es hier auch Ausnahmen gibt, wird anhand der Proteinkinase C (PKC) deutlich. Diese aktiviert KCC2 durch eine direkte Phosphorylierung. Interessanterweise kann dieselbe Kinase auch einen hemmenden Effekt auf KCC2 ausüben. Die WNK (with no lysine (K)-Kinasen beeinflussen NKCC1 und KCC2 durch unterschiedliche Mechanismen. Während WNK3 einen direkten Effekt hat, wird der Effekt von WNK1 und WNK4 über die Kinasen OSR1 (oxidative stress-responsive kinase) bzw. SPAK (Ste20-related kinase) vermittelt. Inwiefern die Kinasen oder beispielsweise der Wachstumsfaktor insulin-like growth factor 1 (IGF1) in Kombination mit der Tyrosinkinase Src regulierend in die Oligomerisierung eingreifen, ist noch nicht untersucht. CKB, creatine kinase B.

Blaesse, P., Guillemain, I., Schindler, J., Schweizer, M., Delpire, E., Khiroug, L., Friauf, E. und Nothwang, H.G. (2006): Oligomerization of KCC2 correlates with development of inhibitory neurotransmission. *J Neurosci* 26: 10407-10419.

Cohen, I., Navarro, V., Clemenceau, S., Baulac, M. und Miles, R. (2002): On the origin of interictal activity in human temporal lobe epilepsy *in vitro*. *Science* 298: 1418-1421.

Coull, J.A., Beggs, S., Boudreau, D., Boivin, D., Tsuda, M., Inoue, K., Gravel, C., Salter, M.W. und De Koninck, Y. (2005): BDNF from microglia causes the shift in neuronal anion gradient underlying neuropathic pain. *Nature* 438: 1017-1021.

Coull, J.A., Boudreau, D., Bachand, K., Prescott, S.A., Nault, F., Sik, A., De Koninck, P. und De Koninck, Y. (2003): Trans-synaptic shift in anion gradient in spinal lamina I neurons as a mechanism of neuropathic pain. *Nature* 424: 938-942.

De Koninck, Y. (2007): Altered chloride homeostasis in neurological disorders: a new target. *Curr Opin Pharmacol* 7: 93-99.

Hübner, C.A., Stein, V., Hermans-Borgmeyer, I., Meyer, T., Ballanyi, K. und Jentsch, T.J. (2001): Disruption of KCC2 reveals an essential role

of K-Cl cotransport already in early synaptic inhibition. *Neuron* 30: 515-524.

Li, H., Khiroug, S., Cai, C., Ludwig, A., Blaesse, P., Kolikova, J., Afzalov, R., Coleman, S.K., Lauri, S., Airaksinen, M.S., Keinänen, K., Khiroug, L., Saarna, M., Kaila, K. und Rivera, C. (2007): KCC2 interacts with the dendritic cytoskeleton to promote spine development. *Neuron* 56: 1019-1033

Obata, K., Oide, M. und Tanaka, H. (1978): Excitatory and inhibitory actions of GABA and glycine on embryonic chick spinal neurons in culture. *Brain Res* 144: 179-184.

Payne, J.A., Rivera, C., Voipio, J. und Kaila, K. (2003): Cation-chloride co-transporters in neuronal communication, development and trauma. *Trends Neurosci* 26: 199-206.

Rivera, C., Voipio, J., Payne, J.A., Ruusuvuori, E., Lahtinen, H., Lamsa, K., Pirvola, U., Saarna, M. und Kaila, K. (1999): The K<sup>+</sup>/Cl<sup>-</sup>-co-transporter KCC2 renders GABA hyperpolarizing during neuronal maturation. *Nature* 397: 251-255.

Woo, N.S., Lu, J.M., England, R., McClellan, R., Dufour, S., Mount, D.B., Deutch, A.Y., Lovinger, D.M. und Delpire, E. (2002): Hyperexcitability and epilepsy associated with disruption of the mouse neuronal-specific K-Cl cotransporter gene. *Hippocampus* 12: 258-268.



Eine vollständige Literaturliste kann bei den Autoren angefordert werden.

### Kurzbiografien

**Hans Gerd Nothwang:** Studium der Biologie und 1992 Promotion an der Universität Stuttgart. Anfertigung der Diplomarbeit und Doktorarbeit am Institut J. Monod in Paris. Postdoc im Institut für Enzymforschung, Tokushima (Japan), an der Universitätskinderklinik Freiburg und am Max-Planck-Institut für Molekulare Genetik in Berlin. Von 2000 bis 2007 Assistent in der Abteilung Tierphysiologie von Prof. E. Friauf an der TU Kaiserslautern. 2005 Habilitation in den Fächern Tierphysiologie und Neurobiologie. Seit 2007 Professor für Neurogenetik an der Carl-von-Ossietzky-Universität Oldenburg.

**Peter Blaesse:** Nach dem Studium der Biologie erfolgte die Promotion in der Abteilung

Tierphysiologie von Prof. E. Friauf an der Technischen Universität Kaiserslautern. Während der Promotion absolvierte Peter Blaesse einen Gastaufenthalt an der Universität Helsinki. Die 2006 fertig gestellte Promotion wurde mit Mitteln des DFG-Graduiertenkollegs „Membrantransport“ gefördert und mit dem Preis des Freundeskreises der TU Kaiserslautern ausgezeichnet. Seit Juli 2006 ist Peter Blaesse als Postdoc in der Gruppe von Kai Kaila an der Universität Helsinki tätig, finanziert durch ein Postdoc-Stipendium des DAAD.

### Korrespondenzadresse

**Prof. Dr. Hans Gerd Nothwang**  
Abteilung Neurogenetik  
Carl-von-Ossietzky-Universität Oldenburg  
26111 Oldenburg  
Tel.: + 49 (0) 441 798 3932  
Fax: + 49 (0) 441 798 3250  
E-Mail: [hans.g.nothwang@uni-oldenburg.de](mailto:hans.g.nothwang@uni-oldenburg.de)

## Ausschreibung für deutsch-französische Projekte in der Gesundheitsforschung



Deutsche und französische Wissenschaftlerinnen und Wissenschaftler können ab sofort gemeinsame Anträge stellen, u. a. im Gebiet „Krebsforschung in den Neurowissenschaften“. Auf französischer Seite fördert das Außenministerium zusammen mit den französischen Forschungsorganisationen (CNRS, INRA, INSERM und Institut Pasteur) deutsch-französische Kooperationsprojekte.

Französische Interessenten an solchen Gemeinschaftsprojekten können bis zum 15. Februar 2008 dafür bei ihren Forschungsorganisationen nach den dort geltenden Richtlinien Fördermittel beantragen. Alle Wissenschaftlerinnen und Wissenschaftler, die bei der Deutschen Forschungsgemeinschaft (DFG) antragsberechtigt sind, können im Rahmen eines Antrags auf Sachbeihilfe komplementäre Mittel zur Teilnahme an dieser Zusammenarbeit beantragen. Dies gilt auch für Angehörige außeruniversitärer Forschungseinrichtungen. Um dem Verfahren auf französischer Seite entgegenzukommen, sollten die deutschen Kooperationspartner für ihren Antrag an die DFG die französische Ausschreibungsfrist beachten.

Die Anträge bei der DFG werden aus Mitteln der Allgemeinen Forschungsförderung finanziert.

### Weiterführende Informationen

[http://www.dfg.de/aktuelles\\_presse/information\\_fuer\\_die\\_wissenschaft/ausschreibungen\\_mit\\_internationalem\\_bezug\\_info\\_wissenschaft\\_56\\_07.html](http://www.dfg.de/aktuelles_presse/information_fuer_die_wissenschaft/ausschreibungen_mit_internationalem_bezug_info_wissenschaft_56_07.html)

### Informationen zur DFG-Sachbeihilfe

[http://www.dfg.de/forschungsfoerderung/einzelfoerderung/kompaktdarstellung\\_sachbeihilfe.html](http://www.dfg.de/forschungsfoerderung/einzelfoerderung/kompaktdarstellung_sachbeihilfe.html)

Leitfaden zur Antragstellung unter:  
[www.dfg.de/forschungsfoerderung/formulare/download/1\\_02.pdf](http://www.dfg.de/forschungsfoerderung/formulare/download/1_02.pdf)

Ausschreibung auf der Website des französischen Außenministeriums unter:  
[www.diplomatie.gouv.fr](http://www.diplomatie.gouv.fr)

### Ansprechpartner bei der DFG

**Dr. Torsten Fischer**  
Tel.: +49 (0) 228 885-2372  
E-Mail: [Torsten.Fischer@dfg.de](mailto:Torsten.Fischer@dfg.de)

**Claudia Wünsche**  
Tel.: +49 (0) 228 885-2242.

## Neueintritte

Folgende Kolleginnen und Kollegen dürfen wir als Mitglieder der Neurowissenschaftlichen Gesellschaft begrüßen:

Ambroziak, Kamila (Hannover)  
Arsic, Dr., Milan (Hannover)  
Bauer, Michel (Bonn)  
Benninger, Dr., Felix (Jerusalem, Israel)  
Brachmann, Isabel (Heidelberg)  
Chaturvedi, Frau, Sukhada (Hannover)  
Cheung, Giselle (Berlin)  
Copanaki, Dr., Ekaterini (Frankfurt/M.)  
Courjaret, Dr., Raphael (Kaiserslautern)  
Devanathan, Vasudharani (Hamburg)  
Ehlers, Jan (Bremen)  
Frahm, Dr. agrar., Christiane (Erfurt)  
Gliem, Sebastian (Göttingen)  
Goetze, Romy (Berlin)  
Groeschel, Moritz (Berlin)  
Haeussler, Dr., Ute (Freiburg)  
Hagemann, Cornelia (Frankfurt/M.)  
Hellbach, Annette (Erlangen)  
Henning, Karen (Berlin)  
Hermann, Christoph (München)  
Hinchliffe, David (Gießen)  
Iqbal, Javid (Saarbrücken)  
Jablonka, Dr. rer. nat., Sibylle (Würzburg)  
Jaenisch, Nadine (Jena)  
Johann, Sonja (Aachen)  
Karpova, Dr., Anna (Magdeburg)  
Khanbabaie, Dr., Reza (Ottawa, Canada)  
Kilian, Susanne Bettina (Braunschweig)  
Kirschuk, Dr., Sergei (Berlin)  
Krueppel, Roland (Bonn)  
Lautemann, Nico (Aachen)  
Leinders-Zufall, Prof. Dr., Trese (Homburg)  
Lieberoth, Annika (Hamburg)  
Linnartz, Bettina (Bochum)  
Mendoza, Ezequiel (Berlin)  
Mikhaylova, Marina (Magdeburg)  
Planchamp, Veronique (Göttingen)  
Podrygajlo, Grzegorz (Hannover)  
Proulx, Dr., Michael (Düsseldorf)  
Ragancokova, Daniela (Hannover)  
Regenbogen, Christina (Bremen)  
Schulze, Christina (München)  
Simon, Christian Marc (Würzburg)  
Solinski, Hans Jürgen (Marburg)  
Stahr, Anna (Jena)  
Stangl, Christian (Martinsried)  
Tegenge, Million Adane (Hannover)  
Toenges, Dr., Lars (Göttingen)  
Uebachs, Dr., Mischa (Bonn)  
Verhaal, Josine (Bochum)  
Weber, Dr., Marco (Leipzig)  
Westphal, Doreen (Hamburg)

Der Mitgliedsstand zum 31. Januar 2008 beträgt 1.829 Mitglieder.

# Pheromonkommunikation bei Mäusen: Vom Gen zum Verhalten

Frank Zufall und Trese Leinders-Zufall

## Zusammenfassung

Das Sozialverhalten von Säugetieren wird entscheidend durch deren Fähigkeit geprägt, Duft- oder Pheromonreize zu detektieren, die bestimmte Informationen über den Sender vermitteln und beim Empfänger zu spezifischen Reaktionen oder Verhaltensweisen führen können. Welche Moleküle werden für diese chemische Kommunikation benutzt? Wie werden sie detektiert? Wie kann das Nervensystem bestimmte soziale Verhaltensweisen, wie z.B. das Aggressionsverhalten, die Aufzucht von Nachkommen oder das Partnerwahlverhalten, regulieren? Und was passiert, wenn bestimmte Gene, die für diese Funktionen von Bedeutung sind, ausgeschaltet werden? Das olfaktorische System der Maus hat sich als ein ausgezeichnetes Modellsystem erwiesen, um diese Fragen zu untersuchen. Durch Kombination von genetischen, physiologischen und verhaltensbiologischen Ansätzen ist es gelungen, in relativ kurzer Zeit einen enormen Fortschritt auf dem Gebiet der Pheromonforschung und der chemischen Kommunikation bei Säugetieren zu erzielen. In diesem Übersichtsartikel fassen wir einige der wichtigsten Erkenntnisse zusammen und diskutieren zukünftige Entwicklungen.

## Abstract

**Pheromonal communication in mice: from gene to behaviour.**

Social behaviour in mammals often relies on the ability to sense olfactory or pheromonal cues that carry information about the sender and lead to specific reactions or decisions by the receiver. What is the nature of these molecules? How are they detected? How does the nervous system regulate behaviours such as aggression, parent-offspring interactions and mating? And what happens when specific genes underlying these functions become defective? The olfactory system of the mouse has emerged as powerful model system to address these questions. A combination of gene-targeting approaches with physiological and behavioural characterization has led to a series of rapid advances in the field of pheromone research and mammalian chemical communication in general. This review describes some of the latest findings and discusses future directions.

**Key words:** vomeronasal organ; TRP channel; major histocompatibility complex; pheromone; olfactory epithelium

## Einleitung

Die Pheromonforschung hat in Deutschland eine besondere Bedeutung und Tradition. Durch die Arbeiten des Nobelpreisträgers Adolf Butenandt, der die menschlichen Sexualhormone isolierte und später den Sexuallockstoff des Seidenspinners (*Bombykol*) entdeckte, wurde erstmals gezeigt, dass identifizierbare Moleküle für chemische Kommunikation zwischen Individuen der gleichen Art verantwortlich sind (*intraspecific or species-specific chemical communication*). Karlson und Lüscher aus Butenandts Gruppe führten 1959 den Begriff *Pheromon* ein und definierten ihn als: "...substances secreted to the outside of an individual and received by a second individual of the same species in which they release a specific reac-

tion, for example, a definite behaviour or developmental process" (Karlson und Lüscher 1959). Diese frühen Arbeiten wurden später erfolgreich am Max-Planck-Institut für Verhaltensphysiologie in Seewiesen durch Dietrich Schneider und Karl-Ernst Kaissling an Insekten fortgesetzt.

In den letzten zehn Jahren wurden auf dem Gebiet der Pheromonforschung auch bei Säugetieren, insbesondere Mäusen, herausragende Fortschritte erzielt (Brennan und Zufall 2006). Durch die gezielte Kombination von genetischen, physiologischen und verhaltensbiologischen Ansätzen konnte eine Vielzahl von neuen Erkenntnissen gewonnen werden, von denen man Mitte der neunziger Jahre des vorigen Jahrhunderts nur träumen konnte. Momentan vergeht fast kein Monat, in dem die führenden Zeitschriften

nicht einen weiteren Durchbruch auf diesem Gebiet vermelden können. In dieser kurzen Übersichtsarbeit möchten wir den Leser davon überzeugen, dass die Erkenntnisse in diesem faszinierenden und äußerst dynamischen Feld nicht nur für die molekulare Sinnesphysiologie von Bedeutung sind, sondern weit reichende Konsequenzen für die Vernetzung der Neuro-, Immun- und Endokrinowissenschaften besitzen.

## Organisation des olfaktorischen Systems der Maus

Ein wichtiges Ziel unserer Arbeiten ist es, die molekularen und zellulären Mechanismen aufzuklären, die der chemischen Kommunikation von Säugetieren zugrunde liegen. Dazu ist es nötig, die generelle Organisation der chemorezeptiven Systeme in der Nase zu verstehen. Wir wissen mittlerweile, dass das periphere olfaktorische System der Maus sehr viel komplexer aufgebaut ist als vorher erwartet wurde und aus einer Reihe von Subsystemen besteht, die strukturell und funktionell ausgesprochen heterogen sind. Diese Organisationsstruktur ist für das Verständnis der Pheromonkommunikation von besonderer Bedeutung (Brennan und Zufall 2006; Zufall und Leinders-Zufall 2007). Als wichtigste olfaktorische Subsysteme (Abbildung 1) sind zu nennen:

1. Das *main olfactory epithelium* (MOE), das die klassischen olfaktorischen Rezeptorneurone (*olfactory sensory neurons*, OSNs) enthält, die ihre Axone zu synaptischen Verschaltungsstellen (Glomeruli) im olfaktorischen Bulbus (*main olfactory bulb*, MOB) des Vorderhirns projizieren.
2. Das akzessorische olfaktorische System, das primär aus dem Vomeronasalorgan (VNO, in der älteren Literatur auch Jakobson'sches Organ genannt) und dem akzessorischen olfaktorischen Bulbus (AOB) besteht.
3. Das Septal Organ (von Masera, SOM), dessen Funktion noch wenig verstanden ist.
4. Das Grüneberg-Ganglion (GG) an der Spitze der Nase, das erst vor drei Jahren wiederentdeckt wurde und dessen Funktion ebenfalls noch unklar ist.

Jedes dieser olfaktorischen Subsysteme besteht aus heterogenen Populationen sensorischer Neurone, wobei die verschiedenen Sinneszelltypen ganz unterschiedliche Rezeptoren und Signaltransduktionskaskaden exprimieren. Erst diese entscheidende Erkenntnis hat es ermöglicht, die diversen Zelltypen genetisch gezielt auszuschalten oder durch fluoreszierende Marker sichtbar zu machen. So besteht das MOE primär aus

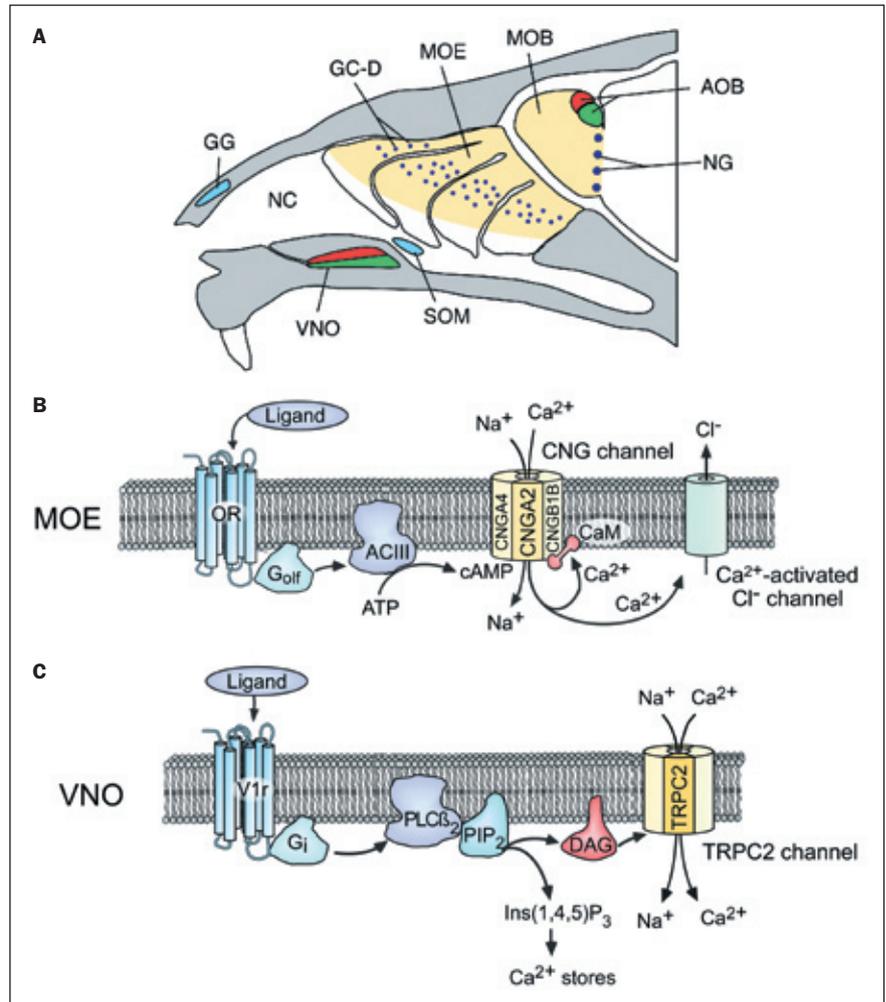


klassischen OSNs, die einen der etwa 1000 Duftrezeptoren exprimieren und durch eine cAMP-abhängige Signaltransduktionskaskade charakterisiert sind (Abbildung 1B). Daneben findet man im MOE aber auch weitere Sinneszelltypen, die z.B. durch die Expression eines TAAR (*trace-amine-associated*) - Rezeptors, eines TRPM5 (*transient-receptor-potential M5*)-Ionenkanals oder durch die Rezeptorguanylatzyklase GC-D (*guanylyl cyclase type D*) charakterisiert sind. VNO-Neurone werden aufgrund ihrer Rezeptorexpression primär in zwei Großklassen eingeteilt, nämlich in Neurone der Apikalzone, die Vomeronasalrezeptoren der Klasse 1 (V1r, etwa 300 Gene bei der Maus) besitzen und in Zellen der Basalzone, die Vomeronasalrezeptoren der Klasse 2 (V2r, etwa 280 Gene bei der Maus) exprimieren. Im Gegensatz zu klassischen OSNs benutzen VNO-Neurone ein Phospholipase C-Transduktionssystem und TRP-Ionenkanäle zur Signalübertragung (Abbildung 1C). Eine ausführliche Besprechung der zellulären und molekularen Heterogenität von chemorezeptiven Sinneszellen der Nase kann im Rahmen dieses Artikels leider nicht erfolgen und der Leser wird auf neuere Übersichtsartikel verwiesen (Zufall und Leinders-Zufall 2007).

**Experimentelle Strategie**

Zum genauen Verständnis der Funktion eines sensorischen Systems ist es notwendig, die Sinnesreize exakt zu definieren, die durch das jeweilige System aufgenommen und verarbeitet werden. Bei der Untersuchung von chemosensorischen Mechanismen ist dieses Unterfangen aufgrund der fast unbegrenzten Zahl von möglichen Reizen nicht trivial. Als wir im Jahr 2000 mit unseren Arbeiten zur chemischen Kommunikation bei Mäusen begannen, war es noch völlig unklar, welche Pheromonmoleküle im olfaktorischen System der Maus detektiert werden. Wir entwickelten deshalb die folgende experimentelle Strategie für unsere Arbeiten:

1. Identifizierung von Pheromonliganden und Analyse der zellulären Mechanismen, die für die Detektion dieser Moleküle von Bedeutung sind. Dazu wurden elektrophysiologische und hochauflösende Kalzium-Imaging-Methoden im intakten Sinnesepithel entwickelt.
2. Somit konnten Sensitivität, Spezifität, Codierungs- und Transduktionsmechanismen pheromonsensitiver Sinneszellen analysiert und räumliche Aktivitätskarten (neuronalen Repräsentationen) erstellt werden.
3. Durch gezielte Mutation von Signaltransduktionskomponenten wie Rezeptoren oder Ionenkanälen konnte die Phero-



**Abb. 1:** (A) Organisation des peripheren olfaktorischen Systems der Maus (Sagittalan-sicht). Erklärung siehe Text. Main olfactory epithelium (MOE), main olfactory bulb (MOB), vomeronasal organ (VNO), accessory olfactory bulb (AOB), septal organ of Masera (SOM), Grüneberg ganglion (GG), guanylate cyclase-expressing cells (GC-D), necklace glomeruli (NG), nasal cavity (NC) (Brennan und Zufall 2006). (B) Schema der molekularen Signaltransduktionskaskade in klassischen olfaktorischen Rezeptorneuronen des MOE. Diese Zellen besitzen eine cAMP-abhängige Transduktionsmaschinerie, bei der die Aktivierung eines Duftrezeptors (OR) über die Adenylatzyklase Typ III (ACIII) zur Produktion von cAMP führt, das dann einen cAMP-geschalteten Kationenkanal aktiviert. Dieser Ionenkanal besteht aus verschiedenen Untereinheiten, wobei die CNGA2-Untereinheit von entscheidender Bedeutung für die Gesamtfunktion des Kanals ist. (C) VNO-Neurone besitzen andere Signaltransduktionsmechanismen, bei denen z.B. die Aktivierung eines Typ-I-Vomeronasalrezeptors (V1r) über Aktivierung der Phospholipase C zur Produktion von Diacylglycerol (DAG) führt, womit ein TRP-Kationenkanal geöffnet werden kann. Das TRPC2-Gen ist von entscheidender Bedeutung für die Funktion des DAG-aktivierten Kanals.

monwirkung in Teilen des olfaktorischen Systems ausgeschaltet werden.  
 4. Die genetisch veränderten Tiere wurden dann Verhaltenstests unterzogen, um die Rolle von Liganden, Signalmolekülen und Zellpopulationen für komplexe, pheromon-induzierte Verhaltensmuster zu analysieren. Im Nachfolgenden wollen wir einige unserer wichtigsten Ergebnisse, die auf der Anwendung dieser Strategie basieren,

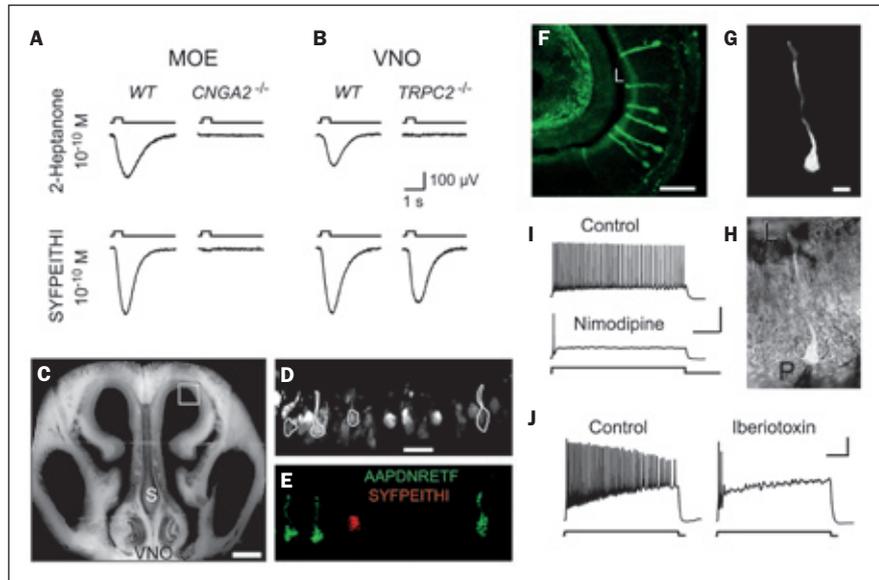
zusammenfassen und die Erkenntnisse im Rahmen der Forschungen anderer Labore bewerten.

**Ultrasensitive Pheromondetektion durch sensorische Neurone im VNO**

Wir haben uns zunächst mit der Funktion des VNO beschäftigt. Dabei war der erste wichtige Schritt die Entwicklung eines

akuten VNO-Schnittpräparats, in dem wir mithilfe von hochauflösenden optischen Methoden die Antwortspektren von Tausenden von Einzelzellen nach Applikation von Pheromonkandidaten systematisch vermessen konnten (Leinders-Zufall et al. 2000). Gleichzeitig zeigte sich, dass dieses Schnittpräparat auch sehr gut für Patch-Clamp-Messungen an einzelnen Neuronen *in situ* geeignet ist. Parallel dazu entwickelten wir eine Methode, mit der großflächig ligandeninduzierte Feldpotenziale (Summenpotenziale) im gesamten VNO vermessen werden konnten (Abbildung 2). Diese beiden methodischen Neuansätze, zusammen mit einem später entwickelten Einzelzellpräparat, bilden die Basis für physiologische Untersuchungen von Pheromoneffekten auf zellulärem Niveau im VNO. Parallel dazu haben wir diese experimentelle Strategie mit Erfolg auch auf das MOE ausgedehnt (Spehr et al. 2006). Außerdem können wir mittlerweile routinemäßig von genetisch markierten, identifizierbaren Zellsubpopulationen im MOE und VNO sowohl elektrische als auch Kalziumsignale registrieren (Leinders-Zufall et al. 2007). In Zukunft planen wir diese Methoden auch für Messungen in weiteren, bisher nicht gut verstandenen olfaktorischen Subsystemen wie dem Septalorgan oder dem Grünebergganglion anzuwenden.

Durch diese methodischen Neuentwicklungen gelang es uns, in unserer Originalarbeit die ersten sechs VNO-Pheromonliganden zu identifizieren und deren funktionelle Effekte zu charakterisieren (Leinders-Zufall et al. 2000). Diese Stoffe sind allesamt niedermolekulare, volatile Substanzen, die aus Mäuserin isoliert und nachfolgend synthetisiert wurden und u.a. zur Steuerung der hormonellen Synchronisation während der Pubertätsentwicklung benutzt werden. Wir fanden, dass einzelne VNO-Neurone in der apikalen, V1r exprimierenden Zone des Sinnesepithels diese Substanzen bei extrem niedrigen Konzentrationen im subnanomolaren Bereich detektieren können. Außerdem zeigte sich, dass das Antwortverhalten dieser Neurone besonders schmalbandig ist. Damit sind diese Zellen auf die Detektion und Transduktion von wenigen, biologisch hoch relevanten Molekülen spezialisiert. Somit unterscheidet sich der Codierungsmodus dieser Neurone sehr stark von klassischen olfaktorischen Neuronen im MOE, die jeweils relativ breitbandig und kombinatorisch auf die Detektion einer Gruppe von Duftstoffen mit ähnlichen chemischen Eigenschaften abgestimmt sind.



**Abb. 2: Neurophysiologische Analyse der Pheromondetektion auf zellulärer Ebene. (A, B) Feldpotenzialmessungen der Rezeptoraktivität zeigen, dass sowohl flüchtige Pheromonsubstanzen wie 2-Heptanone als auch nichtflüchtige chemische Signale wie SYFPEITHI (prototypischer MHC-Klasse-1-Peptidligand aus BALB/c Mäusen) im intakten olfaktorischen Sinnesepithel (MOE) und im VNO bei sehr niedrigen Konzentrationen detektiert werden können. Der Vergleich von Wildtyp (WT) und genetisch veränderten Mäusen (CNGA2<sup>-/-</sup> oder TRPC2<sup>-/-</sup>) zeigt, dass die Rezeptorpotenziale durch verschiedene Transduktionskaskaden generiert werden (Spehr et al. 2006, Brennan und Zufall 2006). (C-E) Konfokalmikroskopie im akuten Schnittpräparat des peripheren olfaktorischen Systems ermöglicht die großflächige Analyse von ligandeninduzierten Kalziumsignalen in einzelnen Sinneszellen *in situ*. Auf diese Weise wurden Subpopulationen von olfaktorischen Rezeptorneuronen identifiziert, die bestimmte MHC-Peptidantigene detektieren können (Spehr et al. 2006, Brennan und Zufall 2006). S, Septum. (F-H) Patch-Clamp-Analyse von genetisch-markierten vomeronasalen Sinneszellen im VNO-Schnittpräparat. Die GFP-positiven Neurone exprimieren den G-Protein-gekoppelten Rezeptor V2r1b (Ukhanov et al. 2007). (I-J) Diese Zellen reagieren auf Injektion von sehr kleinen depolarisierenden Strömen (< 10 pA) mit niederfrequenter, tonischer Aktionspotenzialentladung. Die anhaltende Entladung wird durch eine spezifische Kopplung der Funktion von L-Typ-Kalziumkanälen und BK kalziumaktivierten Kaliumkanälen ermöglicht (Ukhanov et al. 2007).**

### Die Pheromonaktivierung im VNO geschieht durch G-Protein-gekoppelte Rezeptoren

Um die molekularen Detektionsmechanismen besser zu verstehen, untersuchten wir als Nächstes die Rolle von Rezeptorgenen bei der VNO-Signaltransduktion. Da alle sechs der in Leinders-Zufall et al. (2000) identifizierten Liganden nur solche VNO-Neurone aktivieren, die in der apikalen Zone des Sinnesepithels lokalisiert und demnach durch die Expression von Rezeptorgenen der V1r-Familie charakterisiert sind, fokussierten wir uns zunächst auf die V1r-Genfamilie. Durch Kollaboration mit Peter Mombaerts (Rockefeller University, New York; jetzt Max-Planck-Institut für Biophysik, Frankfurt) konnten wir eine Mausmutante phänotypisch analysieren, in der zuvor ein zusammenhängender Cluster von 16 V1r-Genen ausgeschaltet wurde (Del Punta et al.

2002). Diese Mäuse zeigten tatsächlich ganz spezifische Defekte in der VNO-Detektion einiger weniger Pheromonkandidaten wie z.B. Isobutylamine und n-Pentylacetate, während die Detektion verschiedener anderer VNO-Liganden völlig normal war. Die Rezeptor-Mausmutante zeigte außerdem eine Reihe von Defiziten im Sozialverhalten, z.B. im Aggressionsverhalten von Mäuserinnen. Damit konnte erstmalig eine kritische Funktion dieser Rezeptoren in der Pheromondetektion demonstriert werden.

Aus dem Cluster der 16 V1r-Gene ist es bisher allerdings nur in einem einzigen Fall gelungen, einen Pheromonliganden einem bestimmten V1r-Rezeptor zuzuordnen, da sich die funktionelle Charakterisierung der Rezeptoren in heterologen Expressionssystemen als besonders schwierig erwies. Das bedeutet, dass die molekulare Logik zwischen Liganden und V1r-Rezeptoren nach wie vor ungeklärt ist.



**Der TRPC2-Kationenkanal spielt eine wichtige Rolle bei der VNO-Signaltransduktion**

Parallel zu diesen Untersuchungen begannen wir, die Rolle des TRPC2 (transient-receptor-potential C2)-Ionenkanals bei der VNO-Signaltransduktion zu untersuchen (Leypold et al. 2002). Dieses Gen ist primär (aber nicht ausschließlich) in VNO-Neuronen exprimiert. Durch spezifische Antikörpermarkierung konnte ursprünglich gezeigt werden, dass TRPC2-Proteine besonders in den dendritischen Endigungen und sensorischen Microvilli dieser Zellen lokalisiert sind. Um eine mögliche Transduktionsfunktion von TRPC2 zu testen, wurde in Kollaboration mit Nobelpreisträger Richard Axel (Columbia University, New York) eine TRPC2-defiziente Mausmutante generiert. Unter Anwendung der oben beschriebenen physiologischen Techniken konnten wir eine wichtige Rolle

von TRPC2 bei der Detektion von Pheromonmolekülen im VNO nachweisen. So sind z.B. elektrische VNO-Summenpotenziale nach Stimulation mit Urin oder einzelnen Pheromonkomponenten in der TRPC2-defizienten Maus fast völlig unterdrückt (Abbildung 2).

Diese Mäuse wiesen außerdem eine Reihe von unerwarteten Defiziten im Sozial- und Sexualverhalten auf. So zeigten TRPC2-defiziente Mausmännchen keinerlei Aggressionsverhalten gegenüber fremden, in ihr Revier eindringenden Männchen, sondern versuchten stattdessen diese Tiere zu begatten (Leypold et al. 2002, siehe auch Stowers et al. 2002) (Abbildung 3). Das Aggressionsverhalten von Mausmüttern gegenüber männlichen Eindringlingen war ebenfalls völlig ausgeschaltet und es gab noch weitere Defizite im Territorialverhalten und bei der Dominanzerkennung in den TRPC2-Mutanten (Leypold et al. 2002). Neuere Daten haben diese Erkenntnisse gestärkt und weiter ausgebaut (Kimchi et al.

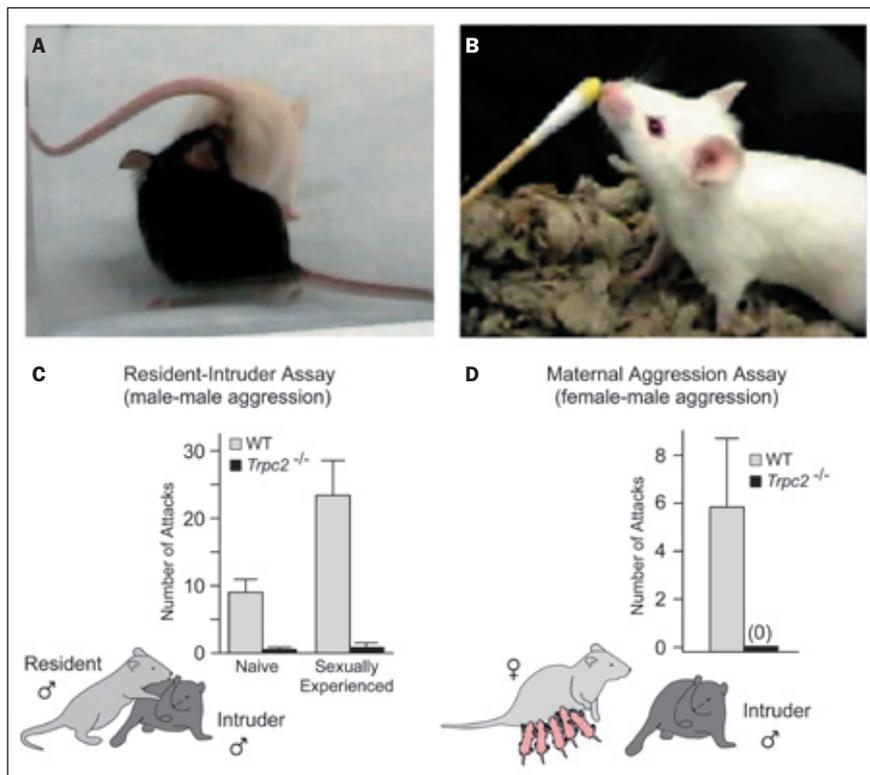
2007). Aus all diesen Ergebnissen können wir schließen, dass TRPC2-abhängige Pheromondetektion im VNO eine entscheidende Rolle für die Regulation geschlechtsspezifischer Verhaltensmuster dieser Tiere spielt.

Als Nächstes führten wir eine funktionelle Charakterisierung des TRPC2-abhängigen Ionenkanals durch (Lucas et al. 2003). In Patch-Clamp-Messungen an Membranstücken in der inside-out-Konfiguration, die direkt von den distalen Dendriten der VNO-Neurone entnommen wurden, konnten wir einen neuartigen Kationenkanal charakterisieren, der durch den Lipidmessenger Diacylglycerol (DAG), nicht aber durch Entleerung von intrazellulären Kalziumspeichern oder durch Inositol 1,4,5-Trisphosphate [Ins(1,4,5)P<sub>3</sub>] aktivierbar war. Um eine mögliche Funktion von TRPC2 bei der Aktivierung dieses DAG-abhängigen Kanals nachzuweisen, haben wir Ganzzellstrommessungen an Wildtyp- und TRPC2-defizienten VNO-Neuronen durchgeführt. Es zeigte sich, dass die Amplitude des DAG-aktivierten Stromes in Abwesenheit von TRPC2 um bis zu 90% vermindert ist. Wir schließen aus diesen Experimenten, dass TRPC2 eine Untereinheit des DAG-aktivierten Kationenkanals darstellt (Lucas et al. 2003). Gegenwärtig versuchen wir, die Regulierung und molekulare Struktur dieses Kanals besser zu verstehen.

Somit ergaben sich durch die Analyse der TRPC2-Mausmutanten entscheidende Fortschritte sowohl für die Funktion des VNO in der zellulären Signaldetektion von Pheromonliganden als auch bei der verhaltensrelevanten Bedeutung VNO-vermittelter neuronaler Signale. Allerdings sollte an dieser Stelle nicht unerwähnt bleiben, dass das VNO nicht nur Pheromone detektiert, sondern auch einige generelle Duftsubstanzen, deren Rolle für die chemische Kommunikation noch unklar ist. Des Weiteren ist das VNO nicht der einzige Ort in der Mausnase, an dem Pheromonmoleküle erkannt und in elektrische Nervensignale umgesetzt werden (siehe unten).

**MHC-Peptidantigene des Immunsystems bilden eine neuartige Familie von pheromonartigen Molekülen im olfaktorischen System**

Ein weiterer Durchbruch zur Funktion des VNO und zur chemischen Kommunikation von Säugetieren gelang uns 2004 (Leinders-Zufall et al. 2004). In dieser Studie konnten wir, in Zusammenarbeit mit Thomas Boehm (Max-Planck-Institut für Immunbiologie, Freiburg) und Heinz Breer (Universität Hohenheim), einen neuartigen, funktionellen Zusammenhang zwischen dem Geruchssystem und dem Immunsystem nachweisen.



**Abb. 3: Chemische Kommunikation in lebenden Mäusen. (A) Ein Mausmännchen (schwarz) detektiert chemische Signalstoffe aus dem Genitalbereich einer weiblichen Maus (weiß). Dabei ist die Nase in direktem Kontakt mit den duftproduzierenden Körperregionen des potenziellen Geschlechtspartners. (B) Verhaltenstest, bei dem die olfaktorische Erkennung von nichtflüchtigen Peptidantigenen durch ein Mausmännchen (weiß) überprüft wird. Auch hier besteht ein direkter Kontakt zwischen der Nase des Versuchstieres und der Duftquelle (Wattestab), bei dem lösliche, großmolekulare Substanzen sowohl zum olfaktorischen Sinnesepithel als auch zum VNO aktiv transportiert werden (Spehr et al. 2006). (C) TRPC2-defiziente Mäuse zeigen einen Verlust des männchenspezifischen Aggressionsverhaltens (male-male aggression) (Leypold et al. 2002). (D) Verlust des Aggressionsverhaltens von TRPC2-defizienten Mausmüttern gegenüber männlichen Eindringlingen (Leypold et al. 2002).**

Es war schon seit etwa 30 Jahren bekannt, dass Gene des Haupthistokompatibilitätskomplexes (major histocompatibility complex, MHC), die eine entscheidende Rolle bei der Immunerkennung spielen, auch das Partnerwahlverhalten vieler Tiere sowie des Menschen über chemische Duftsignale beeinflussen können. Allerdings konnte die Identität dieser Duftstoffe bisher nicht geklärt werden und es war deshalb nicht möglich, die zellulären und molekularen Mechanismen der MHC-vermittelten Prozesse im olfaktorischen System zu untersuchen. Wir vermuteten, dass die gleichen Peptidantigene (MHC-Peptidliganden), die bei der Immunantwort durch MHC-Klasse I-Moleküle präsentiert und von T-Zellrezeptoren erkannt werden, auch von sensorischen Neuronen im Geruchssystem detektiert werden können. Damit könnte das Geruchssystem eine Art Genotypanalyse von potenziellen Geschlechtspartnern durchführen, um Informationen über die genetische Kompatibilität von Artgenossen zu erhalten (Boehm und Zufall 2006).

Tatsächlich konnten wir nachweisen, dass bestimmte Gruppen von VNO-Neuronen die Sequenzen von MHC-Peptiden in einer Weise diskriminieren können, die der der MHC-Moleküle verblüffend ähnlich ist (Leinders-Zufall et al. 2004). Diese Information wird durch das Nervensystem verrechnet und kann *in vivo* zu dramatischen biologischen Konsequenzen führen. So können schwangere Mäuse die Zugabe von wenigen, fremden MHC-Peptiden zu dem Urin ihrer eigenen Geschlechtspartner tatsächlich detektieren und diese Signale können den sogenannten „Bruce Effekt“ auslösen, der zum gezielten Schwangerschaftsabbruch bei diesen Tieren führt (Leinders-Zufall et al. 2004).

Ein weiteres wichtiges Ergebnis ergab sich aus der räumlichen Kartierung der peptidaktivierten Neurone im sensorischen Epithel des VNO. So konnten wir zeigen, dass MHC-Peptide durch Neurone in der Basalzzone des VNO detektiert werden, die Gene der V2r-Rezeptorfamilie exprimieren. Mit Hunderten von Einzelmolekülen bilden MHC-Peptide somit die erste Großfamilie von chemischen Reizstoffen, die von V2r-positiven VNO-Neuronen erkannt werden. Zukünftige Experimente sollen überprüfen, ob V2r-Rezeptoren an der Peptiderkennung direkt beteiligt sind.

Mittlerweile wissen wir, dass V2r-exprimierende VNO-Neurone nicht nur MHC-Peptide, sondern auch Mitglieder einer weiteren Peptidfamilie – die sogenannten ESP-Peptide (exocrine gland secreting peptides) – detektieren (Kimoto et al. 2005). Diese Moleküle, die eine Länge von 60-160 Aminosäuren besitzen, werden bei der Maus durch mindestens 38 ver-

schiedene Gene codiert. Die genaue Funktion der ESP-Peptide bei der chemischen Kommunikation ist noch ungeklärt. Die unterschiedlichen Expressionsmuster dieser Peptide in verschiedenen Mausstämmen könnten darauf hinweisen, dass diese Moleküle Informationen über die Identität des jeweiligen Stamms vermitteln. Neben den MHC- und ESP-Peptiden wurden eine Reihe polymorpher Proteine identifiziert, die wahrscheinlich auch durch VNO-Neurone detektiert werden. Darunter befinden sich die sogenannten MUPs (major urinary proteins), die ebenfalls an der Ausbildung einer chemischen Signatur, die zur Individualerkennung von Mäusen dient, beteiligt zu sein scheinen.

### **Pheromone werden auch im olfaktorischen Sinnesepithel detektiert**

Noch bis vor Kurzem galt die vorherrschende Lehrmeinung, dass Pheromone nur im hoch spezialisierten VNO detektiert werden, nicht aber im MOE, das für die generelle Detektion von volatilen Duftsubstanzen zuständig sein sollte. Da der Mensch kein funktionelles VNO besitzt, ergab sich im Umkehrschluss als mögliche Konsequenz, dass beim Menschen keine Pheromone detektiert werden können. Dieses Modell ist mittlerweile überholt und wir wissen jetzt, dass sowohl flüchtige als auch Kontaktpheromone (wie z.B. Peptide und Proteine) in beiden olfaktorischen Systemen detektiert werden und biologische Effekte auslösen können (Brennan und Zufall 2006) (Abbildung 2). Damit ergeben sich auch neuartige Ansätze für die Pheromonforschung beim Menschen.

Ein wichtiges Beispiel dieser neuen Sichtweise stammt aus Untersuchungen zur Wirkung der MHC-Peptidantigene im MOE (Spehr et al. 2006). Ausgangspunkt für diese Experimente war unser Resultat, dass nicht-flüchtige, fluoreszierende Moleküle bei Körperkontakt zweier Mäuse nicht nur Zugang zu den Sinneszellen des VNO finden, sondern auch in das olfaktorische Epithel transportiert werden. Nachfolgende elektrophysiologische und optische Messungen konnten dann im MOE Sinneszellen identifizieren, die nanomolare Konzentrationen von MHC-Peptiden detektieren können. Dabei handelt es sich um klassische, cAMP-sensitive olfaktorische Neurone. Bei Mausmutanten, in denen der cAMP-aktivierte Kationenkanal CNGA2 genetisch ausgeschaltet war, wurden diese Peptide im MOE nicht wahrgenommen. Im Verhaltenstest *in vivo* konnten wir zeigen, dass die Zugabe von bestimmten MHC-Peptiden zum Mausurin die Duftattraktivität beträchtlich steigerte, dass also Mäuse bestimmte MHC-Peptide präferierten. Diese Präferenz

trat in der CNGA2-Mutante nicht auf. Aus all diesen Experimenten folgern wir, dass die beiden olfaktorischen Systeme zum Teil überlappende Familien von sozialen Erkennungssignalen durch verschiedene Mechanismen detektieren. Diese Information wird vom Gehirn nicht als redundant angesehen, sondern führt zu verschiedenen biologischen Effekten. Daneben gibt es auch Beispiele dafür, dass die beiden olfaktorischen Systeme synergistisch an der chemischen Kommunikation beteiligt sein können.

### **Analyse der zentralen Verschaltungs- und Neuroendokrinmechanismen**

Aufgrund der Erkenntnis, dass die gleichen Pheromone bei Mäusen teilweise parallel in verschiedenen olfaktorischen Subsystemen detektiert und verarbeitet werden können, ergeben sich jetzt wichtige neue Fragen bezüglich der Verrechnung und Integration dieser Signale auf höherer Verschaltungsebene im Gehirn. Dabei fokussiert sich das Interesse auf Teile des limbischen Systems, insbesondere auf die mediale Amygdala, die als zentrale Verschaltungsstation dieser Signale angesehen wird (Brennan und Zufall 2006). Eine weitere wichtige Forschungsrichtung ergibt sich durch die Frage nach den Mechanismen, die der neuroendokrinen Kopplung von Pheromonsignalen unterliegen. Hier gelang es kürzlich durch neuartige genetische Methoden, transneuronalen Tracer in Nervenzellen des Hypothalamus zu exprimieren und damit neuronale Schaltkreise, die der pheromoninduzierten Hormonsteuerung unterliegen, zu charakterisieren. Leider kann im Rahmen dieser Arbeit nicht auf Detailergebnisse eingegangen werden und der Leser wird auf neuere Übersichtsarbeiten verwiesen (Boehm 2006). Durch die Fortschritte bei den genetischen Markierungsmethoden werden sich in der nahen Zukunft auch eine Vielzahl von Möglichkeiten für die Anwendung elektrophysiologischer und optischer Messverfahren zur Analyse dieser neuroendokrinen Schaltkreise *in vivo* ergeben.

### **Ausblick**

Durch eine integrative Analyse, die sowohl genetische, physiologische und verhaltensbiologische Methoden umfasst, können in den nächsten Jahren weitere erhebliche Fortschritte gemacht werden, um die molekulare Logik der chemischen Kommunikation von Säugetieren zu entschlüsseln. Schon jetzt ist es klar, dass die dazu benutzten biologischen Mechanismen sehr viel komplexer sein werden als ursprünglich angenommen wurde. Bei diesem Vorgehen wird es besonders wichtig



sein, Untersuchungen auf der Eingangsebene des Geruchssystems mit Veränderungen des Ausgangssignals auf der Ebene der Perzeption besser zu integrieren. Zwei neue Arbeiten zeigen, dass der eingeschlagene Weg – vom Gen zum Verhalten – jetzt vielfältige Früchte trägt. Zum einen gibt es erhebliche Fortschritte in der Frage, wie genotypische Variationen eines menschlichen Duftrezeptors die Perzeption der Steroide Androstenone und Andostradienone beeinflussen (Keller et al. 2007). Diese Substanzen, die auch im menschlichen Schweiß vorkommen, werden von einigen Forschern als Pheromone angesehen. Neben speziesspezifischen Signalen spielen auch heterospezifische Signale eine wichtige Rolle bei der chemischen Kommunikation von Säugetieren, z.B. bei der Erkennung von Feinden. In einer eindrucksvollen Arbeit konnten Kobayakawa et al. (2007) kürzlich Teile des olfaktorischen Systems genetisch ausschalten und diesen Regionen eine Funktion bei angeborenen, aversiven Verhaltensweisen zuordnen.

## Glossar

**Pheromon:** altgriechisch: pherein „überbringen, übermitteln, erregen“, horm'on „bewegen“

## Literatur

- Boehm, T. und Zufall, F. (2006): MHC peptides and the sensory evaluation of genotype. *Trends Neurosci* 29: 100-107.
- Boehm, U. (2006): The vomeronasal system in mice: From the nose to the hypothalamus- and back! *Semin Cell Dev Biol* 17: 471-479.
- Brennan, P.A. und Zufall, F. (2006): Pheromonal communication in vertebrates. *Nature* 444: 308-135.
- Del Punta, K., Leinders-Zufall, T., Rodriguez, I., Jukam, D., Wysocki, C., Ogawa, S., Zufall, F. und Mombaerts, P. (2002): Deficient pheromone responses in mice lacking a cluster of vomeronasal receptor genes. *Nature* 419: 70-74.
- Karlson, P. und Lüscher, M. (1959): 'Pheromones': A new term for a class of biologically active substances. *Nature* 183: 55-56.
- Keller, A., Zhuang, H., Chi, Q., Vossahl, L.B. und Matsunami, H. (2007): Genetic variation in a human odorant receptor alters odour perception. *Nature* 449: 468-472.
- Kimchi, T., Xu, J. und Dulac, C. (2007): A functional circuit underlying male sexual behaviour in the female mouse brain. *Nature* 448: 1009-1014.
- Kobayakawa, K., Kobayakawa, R., Matsumoto, H., Oka Y., Imai, T., Ikawa, M., Okabe, M., Ikeda, T., Itoharu, S., Kikusui, T., Mori, K. und Sakano, H. (2007): Innate versus learned odour processing in the mouse olfactory bulb. *Nature* 450: 503-508.
- Kimoto, H., Haga, S., Sato, K. und Touhara, K. (2005): Sex-specific peptides from exocrine glands stimulate mouse vomeronasal sensory neurons. *Nature* 437:898-901.
- Leinders-Zufall, T., Lane, A., Puche, A., Ma, W., Novotny, M., Shipley, M. und Zufall, F. (2000): Ultrasensitive pheromone detection by mammalian vomeronasal neurons. *Nature* 405: 792-796.
- Leinders-Zufall, T., Brennan, P., Widmayer, P., Chandramani, S.P., Maul-Pavicic, A., Jäger, M., Li, X.-H., Breer, H., Zufall, F. und Boehm, T. (2004): MHC class I peptides as chemosensory signals in the vomeronasal organ. *Science* 306: 1033-1037.
- Leinders-Zufall, T., Cockerham, R.E., Michalakis, S., Biel, M., Garbers, D.L., Reed, R.R., Zufall, F. und Munger, S.D. (2007): Contribution of the receptor guanylyl cyclase GC-D to chemosensory function in the olfactory epithelium. *Proc Natl Acad Sci USA* 104: 14507-14512.
- Leypold, B., Yu, C.R., Leinders-Zufall, T., Kim, M.M., Zufall, F. und Axel, R. (2002): Altered sexual and social behaviors in trp2 mutant mice. *Proc Natl Acad Sci USA* 99: 6376-6381.
- Lucas, P., Ukhanov, K., Leinders-Zufall, T. und Zufall, F. (2003): A diacylglycerol-gated cation channel in vomeronasal neuron dendrites is impaired in TRPC2 mutant mice: Mechanism of pheromone transduction. *Neuron* 40: 551-561.
- Spehr, M., Kelliher, K.R., Li, X.-H., Boehm, T., Leinders-Zufall, T. und Zufall, F. (2006): Essential role of the main olfactory system in social recognition of major histocompatibility complex peptide ligands. *J Neurosci* 26: 1961-1970.
- Stowers, L., Holy, T.E., Meister, M., Dulac, C. und Koentges, G. (2002): Loss of sex discrimination and male-male aggression in mice deficient for TRP2. *Science* 295: 1493-1500.
- Ukhanov, K., Leinders-Zufall, T. und Zufall, F. (2007): Patch-clamp analysis of gene-targeted vomeronasal neurons expressing a defined V1r or V2r receptor: Ionic mechanisms underlying persistent firing. *J Neurophysiol* 98: 2357-2369.
- Zufall, F. und Leinders-Zufall, T. (2007): Mammalian pheromone sensing. *Curr Opin Neurobiol* 17: 1-7.

## Danksagung

Wir möchten uns bei unseren akademischen Lehrern, unseren jetzigen und früheren Mitarbeitern sowie unseren Kollaborationspartnern bedanken. Unsere Arbeiten werden durch Mittel der Deutschen Forschungsgemeinschaft (SFB 530, GK 1326), der Universität des Saarlandes und der Volkswagenstiftung (T.L.-Z.) gefördert.

## Kurzbiografien

**Frank Zufall:** geb. 1956 in Gifhorn/Niedersachsen. Studium der Biomedizinischen Technik in Hamburg und der Biologie an der FU Berlin. Diplomarbeit bei Randolph Menzel über die Funktion von Lichtsinneszellen. 1984-1986 wissenschaftlicher Mitarbeiter bei der Schering AG in Berlin. 1986-1990 wissenschaftlicher Mitarbeiter am Physiologischen Institut der TU München (Direktor:

J. Dudel). 1990 Promotion bei Hanns Hatt über Mechanismen der Pheromonsignaltransduktion. 1990-1992 wissenschaftlicher Assistent am Physiologischen Institut der TU München, während dieser Zeit längere Forschungsaufenthalte bei Gordon Shepherd und Stuart Firestein an der Yale University in New Haven/Connecticut. 1992 Habilitation im Fach Physiologie an der Medizinischen Fakultät der TU München. Ab 1993 Assistant Professor im Department of Neurobiology (Chair: P. Rakic) an der Yale University School of Medicine. 1997-2006 Associate Professor und Full Professor im Department of Anatomy and Neurobiology (Chair: M. Shipley) an der University of Maryland School of Medicine in Baltimore/Maryland. 2006 Rufe auf die Lehrstühle für Physiologie der Universität Magdeburg (Nachfolge: H.C. Pape) und der Universität des Saarlandes (Nachfolge: I. Schulz). Seit 2007 Univ.-Prof. (W3) am Institut für Physiologie der Medizinischen Fakultät der Universität des Saarlandes und Direktor der Abteilung Molekulare Sinnesphysiologie.

**Trese Leinders-Zufall:** geb. 1963 in Nieuwer-Amstel/Niederlande. Studium der Biologie an der Universität Utrecht. 1986-1992 wissenschaftliche Mitarbeiterin am Institut für Toxikologie der Universität Utrecht (Direktor: W. Seinen) und bei Organon International (Akzo Pharma, Niederlande). Während dieser Zeit auch Erasmus-Stipendiatin bei Hermann Passow am Max-Planck-Institut für Biophysik in Frankfurt. 1992 Promotion bei Henk Vijverberg und Joep van den Bercken über die Funktion von kalziumaktivierten Kaliumkanälen. 1992-1996 Postdoc am Department of Neurology (Chair: S. Waxman) und Neurobiology (Chair: P. Rakic), Yale University School of Medicine, New Haven/CT. 1996-1997 Assistant Professor an der Yale University School of Medicine. 1997-2007 Assistant Professor und Associate Professor im Department of Anatomy and Neurobiology (Chair: M. Shipley) an der University of Maryland School of Medicine in Baltimore. Ab 2008 W3-Lichtenberg-Professorin der Volkswagenstiftung an der Medizinischen Fakultät der Universität des Saarlandes.

## Korrespondenzadresse

**Prof. Dr. rer. nat. Dr. med. habil.**

**Frank Zufall**

Klinikum der Universität des Saarlandes  
 Physiologisches Institut, Gebäude 58  
 Kirrberger Straße, 66421 Homburg/Saar  
 Tel.: +49 (0) 6841 16 26450  
 Fax.: +49 (0) 6841 16 26655  
 E-Mail: frank.zufall@uks.eu

# Neue Lehrbücher Psychologie – Neurowissenschaften

www.spektrum-verlag.de

## ► Allgemeine Psychologie – eine moderne Einführung



2. Aufl. 2007, 820 S., 300 Abb., geb.  
€ (D) 54,95 / € (A) 56,50 / sFr 89,50  
ISBN 978-3-8274-1780-0

Jochen Müsseler

### Allgemeine Psychologie

Jochen Müsseler hat ein Lehrbuch herausgegeben, das ergänzend zum Prüfungstoff moderne Sichtweisen einbezieht, die spannend sind und für die psychologische Praxis und Forschungspraxis Gewicht haben. In sechs Kapiteln zu

- Wahrnehmung, Aufmerksamkeit und Bewusstsein
  - Motivation, Volition und Emotion
  - Lernen und Gedächtnis
  - Sprachproduktion und -verstehen
  - Denken und Problemlösen
  - Handlungsplanung und -ausführung
- kommen insbesondere die aktuellen Forschungsfragen zur Bewusstseinsthematik, zur Künstlichen Intelligenz mit ihren neuen kognitiven Modellen sowie Exekutiv-Funktionen und der Wahrnehmungs-Handlungs-Zusammenhang zur Sprache, dargestellt von Spezialisten.

### Dozentenstimmen zur 1. Auflage

„Endlich gibt es wieder eine umfassende Einführung in die Allgemeine Psychologie in deutscher Sprache. Sie ist aktuell, kompakt und erfreulich lesbar abgefasst.“

Prof. Dr. H. Hecht, Universität Mainz

„Ein Buch, das für den deutschen Sprachraum schon lange überfällig war!“

Prof. Dr. Frank Rösler, Universität Marburg

„Fantastisch! Einfach nur fantastisch!“

Prof. Dr. Dr. Onur Güntürkün, Universität Bochum

## ► Die ganze Psychologie in einem Standard-Lehrbuch



7. Aufl. 2007, 522 S.,  
490 Abb., geb.  
€ (D) 54,95 /  
€ (A) 56,50 / sFr 89,50  
ISBN 978-3-8274-1766-4

Bruce E. Goldstein

### Wahrnehmungspsychologie

In 16 Kapiteln beantwortet Goldsteins Lehrbuchklassiker u. a. die folgenden Fragen: Was ist Wahrnehmung? Was sind die neuronalen Mechanismen der Wahrnehmung? Inwieweit arbeitet das Gehirn ähnlich wie ein Computer? Wie wird das Netzhautbild verarbeitet? Wie nehmen wir Farbe wahr? Wie erkennen wir Objekte? Wie nehmen wir Tiefe und Größe von Objekten wahr? Wie erkennen wir Bewegung? Wie funktioniert unser Gehör? Wie nehmen wir Klänge und Lautstärken wahr? Wie erkennen und verstehen wir Sprache? Wie funktionieren unsere Sinne?

## ► Die ganze Psychologie in einem Lehrbuchklassiker



14. Aufl. 2007, 1.022 S.,  
281 Abb., geb.  
€ (D) 49,95 /  
€ (A) 51,35 / sFr 81,50  
ISBN 978-3-8274-1405-2

Edward E. Smith

### Atkinsons und Hilgards Einführung in die Psychologie

Der absolute Lehrbuchklassiker aus den USA, der als integriertes Vielautorenwerk ein breites Kompetenzspektrum über die gesamte Psychologie bietet. Alle Disziplinen – von Wahrnehmung und Kognition über Sprache und Denken, Emotion und Motivation, Persönlichkeit und sozialer Interaktion bis hin zu Entwicklung und Erziehung bzw. sozialem Umfeld und psychischen Störungen sind in diesem Buch versammelt. Ein großartiges Lehrbuch, das es versteht, nachhaltiges Verstehen mit Prüfungswissen zu verbinden!



6. Aufl. 2007, 606 S.,  
200 Abb., geb.  
€ (D) 44,95 /  
€ (A) 46,21 / sFr 73,50  
ISBN 978-3-8274-1743-5

## ► Komplett überarbeitet und auf dem neuesten Stand!

John R. Anderson

### Kognitive Psychologie

Deutsche Ausgabe herausgegeben von Joachim Funke

John R. Anderson hat in der aktuellen Auflage seines Lehrbuchklassikers die modernen Erkenntnisse der Gehirnforschung und der Kognitionswissenschaft zusammengeführt und aufgezeigt, wie sich Prozesse der Wahrnehmung und Verarbeitung von Reizinformation mit Gedächtnisprozessen verknüpfen, die ihrerseits die Grundlage geistiger Fähigkeiten wie Sprache, Schlussfolgern, Problemlösen und Fähigkeitserwerb bilden. In den 13 Kapiteln ist der Prüfungsstoff kompakt und übersichtlich gegliedert, anschaulich illustriert und durch Merksätze zu jedem Themenabschnitt einprägsam zusammengefasst. Ideal zur Prüfungsvorbereitung!



1. Aufl. 2007, 722 S.,  
102 Abb., geb.  
€ (D) 49,95 /  
€ (A) 51,35 / sFr 81,50  
ISBN 978-3-8274-1547-9

## ► „Das beste Sozialpsychologie-Lehrbuch auf dem deutschsprachigen Markt!“ Prof. Strack

Lioba Werth / Jennifer Mayer

### Sozialpsychologie

Dieses Lehrbuch bietet einen knappen und kompetenten Überblick über das Fach Sozialpsychologie: Denken, Fühlen und Handeln im sozialen Kontext. Entsprechend den Bachelor- und Master-Studiengängen sind die Einzelthemen an den Erfordernissen des Grundstudiums sowie der Anwendungspraxis im Berufsalltag orientiert.

„Zwei forschungsaktiven und schreibbegeisterten Wissenschaftlerinnen ist es gelungen, eine Einführung in die Sozialpsychologie vorzulegen, die das gesamte Gebiet leicht verständlich und doch anspruchsvoll auch dem Anfänger näher bringt. Besonders haben sich die Autorinnen darum bemüht, die berichteten wissenschaftlichen Konzepte und Befunde mit Anwendungsbeispielen aus der Lebens- und Arbeitswelt der Leser zu verbinden.“ Prof. Dr. Fritz Strack, Universität Würzburg

Sämtliche Preise verstehen sich inkl. Mehrwertsteuer, zzgl. Versandkosten –  
Preise unter Vorbehalt.

**Spektrum**  
AKADEMISCHER VERLAG



# Schallemissionen aus Insektenohren: Hinweis auf aktives Hören?

Manfred Kössl, Doreen Möckel, Melanie Weber und Ernst-August Seyfarth

## Zusammenfassung

Hörsinnesorgane von Insekten können otoakustische Emissionen produzieren. Derartige Schallemissionen aus dem Ohr gelten bei Wirbeltieren als Nebenprodukt einer aktiven und nichtlinearen cochleären Schallverstärkung durch spezialisierte Sinneszellen, die leise Schallschwingungen verstärkt und damit die Hörempfindlichkeit beträchtlich erhöht. Obwohl Wirbeltiere und Insekten andersartige Sinneszellen in ihrem Gehör aufweisen (Haarsinneszellen versus primäre Sinnesneurone mit einem Cilium), scheinen evolutiv konvergente Konstruktionsprinzipien der Mikromechanik des Ohrs vorzuliegen, um hohe Empfindlichkeit zu erzielen. Tympanalorgane von Insekten emittieren bestimmte otoakustische Emissionen, die auf nichtlinearen Eigenschaften des Sinnesorgans beruhen und – ähnlich wie die von Wirbeltieren – vom intakten Zellstoffwechsel abhängen. Allerdings ist für Tympanalorgane noch nicht geklärt, ob tatsächlich eine schnelle aktive Verstärkung durch die Sinneszellen vorliegt oder ob passive zelluläre Eigenschaften die nichtlineare Ohrcharakteristik ausmachen. Bei den antennalen Hörorganen von Fliegen hingegen wurde eine aktive Motilität des letzten Antennengliedes nachgewiesen. Wir zeigen am Beispiel der tympanalen Hörorgane von Heuschrecken und Nachtfaltern, dass die Emissionen frequenzspezifisch emittiert werden und durch elektrische Manipulation der Sinneszellen modifizierbar sind. Selbst das einfache Ohr bestimmter Nachtfalter, das nur eine einzige Sinneszelle aufweist, produziert deutliche Emissionen. Zurzeit ist weder bei Wirbeltieren noch bei Insekten zufriedenstellend geklärt, ob die für ein empfindliches Gehör essenzielle Nichtlinearität bzw. Verstärkung primär durch somatische Motilität der Sinneszellkörper bedingt wird oder durch aktive Bewegungsfähigkeit der Haarbündel bzw. Cilien der Sinneszellen. Weitere Untersuchungen am einfachen Modellsystem Insekt können hier helfen, offene Fragen zu klären.

## Abstract

**Do otoacoustic emissions from tympanal organs of insects indicate active hearing?**  
The tympanal hearing organs of insects produce otoacoustic emissions that can be recorded with the aid of a sensitive microphone. In vertebrates (including humans), such emissions are considered a by-product of active sound amplification through specialized sensory cells in the inner ear (i.e., the outer hair cells). Force-generation by these cells primarily amplifies faint sound and thus improves auditory sensitivity. As in vertebrates, the emissions from insect ears are based on non-linear mechanical properties of the sense organ. To achieve maximum sensitivity, convergent evolutionary principles were realized in the micromechanics of the ears – although vertebrates and insects possess different types of sensory cells in their auditory organs. Just as in vertebrates, otoacoustic emissions from insects ears depend on an intact metabolism, but so far in tympanal organs, it is not clear if amplification is achieved by active motility of the sensory neurons or if passive cellular characteristics cause the non-linear behavior. In the antennal ears of flies, however, active motility of the flagellum has been demonstrated. Here we review experiments on tympanal organs of grasshoppers and moths; we show that their otoacoustic emissions are produced in a frequency-specific way and can be modified by electrical stimulation of the sensory cells. Even the simple ears of notodontid moths produce distinct emissions, although they have just one auditory neuron. At present it is still uncertain, both for vertebrates and insects, if the non-linear amplification so essential for sensitive sound processing is primarily due to electromotility of the cell body of the sensory cells or to active movement of their hair-bundles or cilium. Further experiments with the relatively simple ears of insects may help to answer these questions.

**Key words:** hearing organs; tympanal organ; otoacoustic emissions; non-linear amplification; electromotility

## Otoakustische Emissionen – Das Innenohr erzeugt Schallenergie

Sinnesorgane wandeln in ihren sensorischen Zellen spezifische physikalische Reizenergie in eine Änderung des Membranpotenzials um. Diese Umwandlung, auch als Reiztransduktion bezeichnet, basiert entweder auf intrazellulärer Reizaufnahme wie im Falle visueller Reize oder, in mechanisch sensitiven Sinnessystemen, auf direkter Aktivierung von Membranproteinen, die meist an einen Ionenkanal gekoppelt sind. Derartige Transduktionsmechanismen arbeiten normalerweise nur in eine Richtung.

Aus diesem Grund war die Überraschung groß, als David Kemp im menschlichen äußeren Gehörgang Schallereignisse messen konnte, die offensichtlich vom Innenohr erzeugt wurden (Kemp 1978). Er stimulierte das Ohr mit kurzen akustischen Klickreizen und zeigte, dass Schallwellen einer spezifischen Tonfrequenz mit einer bestimmten Verzögerungszeit im Gehörgang auftraten. Ursprünglich wurden diese Ereignisse auch als „Kemp-Echos“ bezeichnet. Allerdings haben sie ihren Ursprung nicht in einer echoartigen Reflektion am Trommelfell oder im Mittelohr, sondern hängen von einem physiologisch intakten Innenohr ab. Eine Reihe nachfolgender Studien wies nach, dass die äußeren Haarzellen des Innenohrs von Säugetieren essenziell für diese Schallgenerierung sind (z.B. Kakigi et al. 1998). Während die inneren Haarzellen massiv von Dendriten der Hörnervneurone innerviert sind und ihre Hauptfunktion in einer Weiterleitung der Hörinformation an auditorische Zentren im Gehirn zu sehen ist, besitzen die äußeren Haarzellen nur wenige Hörnervsynapsen, sind jedoch direkt von efferenten Axonen innerviert, die eine zentrifugale Informationsübertragung vom Hirnstamm an das Innenohr ermöglichen. In der Zellmembran äußerer Haarzellen wurde ein Protein, das Prestin, entdeckt, das spannungsabhängige Konformationsänderungen durchführt und bei Depolarisation bzw. Hyperpolarisation des Membranpotenzials eine Verkürzung bzw. Verlängerung des Zellkörpers bewirkt (Übersicht: Dallos und Fakler 2002). Damit ist die äußere Haarzelle in der Lage, bei Schallreizung Kraft zu erzeugen, welche die Auslenkungsamplitude von Basilarmembran und Corti-Organ im Innenohr deutlich erhöhen kann. Die spannungsabhängige Motilität der äußeren Haarzellen wird als Grundlage des sogenannten „cochleären Verstärkers“ angesehen (Übersicht: Geleoc und Holt 2003), der bei Säugetieren für eine Verbesserung der Innenohrempfindlichkeit um etwa 40-60 dB sorgt (Faktor 100-1000).

## Exkurs 1

### Charakterisierung von otoakustischen Emissionen

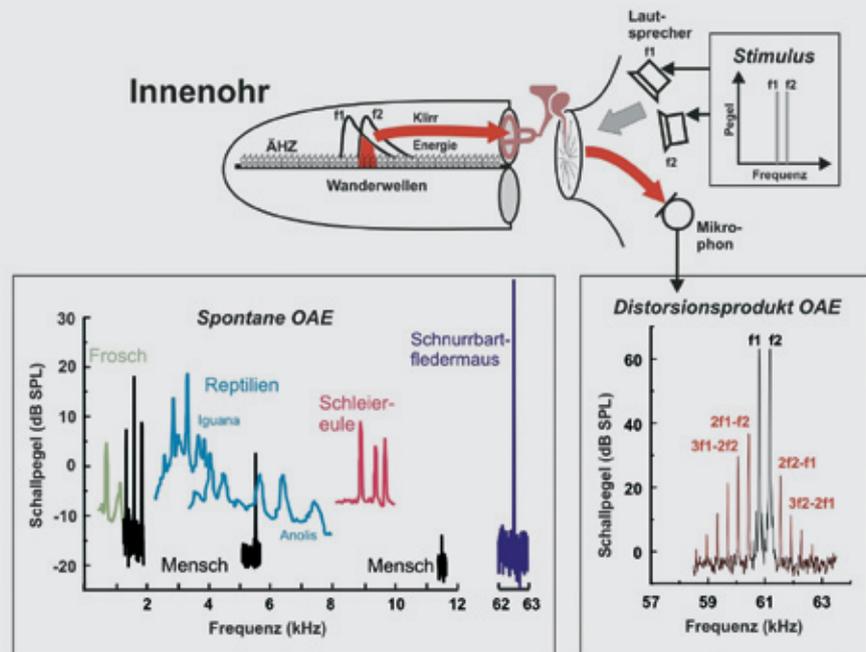
Man unterscheidet zwei Arten von otoakustischen Emissionen (OAE). Sogenannte „place dependent“ OAE enthalten spezifische Tonfrequenzen. Dementsprechend sind die Emissionen einem ganz bestimmten Frequenzabstandsort im Innenohr zuzuordnen. Zu den place-dependent OAE gehören sowohl Emissionen, die bei externer Schallreizung des Innenohrs auftreten (wie Klick-evozierte OAE oder Dauerton-evozierte OAE), als auch spontane OAE (SOAE), die auch ohne externe Tonreizung messbar sind. Die SOAE stellen den direktesten Hinweis dar, dass im Innenohr aktiv Schall generiert werden kann. SOAE sind bei vielen Versuchspersonen in Form eines sehr engen Amplitudenmaximums bei einer bestimmten Tonfrequenz messbar (s. die Abbildung, links unten). Oftmals treten auch mehrere SOAE pro Innenohr auf. SOAE sind meist sehr leise, mit Amplituden unterhalb unserer Hörschwellsensitivität, sodass sie nicht hörbar, wohl aber mit einem empfindlichen Mikrofon messbar sind. In manchen Fällen erreichen sie aber einen Schalldruck von bis zu 20 dB SPL und werden dann auch hörbar. Sie treten in unserem Bereich besten Hörens, zwischen 100-11000 Hz auf. Als Ursache für SOAE wird spontane Motilität von Haarzellen angesehen. Um allerdings die Frequenzspezifität dieser OAE erklären zu können, sind zusätzliche Mechanismen nötig, z.B. die Entstehung stehender Wellen an Diskontinuitäten der Cochleastruktur (siehe Abbildung).

Auch für die Erzeugung evozierter OAE spezifischer Frequenz sind derartige Zusatzvoraussetzungen nötig. Evozierte OAE können sich in SOAE umwandeln und umgekehrt. Dies macht deutlich, dass derselbe Mechanismus verantwortlich ist. Modelliert man OAE-Erzeugung in Form eines Rückkopplungssystems, dann unterscheiden sich beide Arten von OAE lediglich im Verstärkungsfaktor in der Rückkopplungsschleife.

Bei Amphibien, Reptilien und Vögeln gibt es auch deutlich ausgeprägte SOAE (siehe dazu die Abbildung; Frosch: Long et al. 1996; Reptilien: Manley 2006; Schleiereule: Taschenberger und Manley 1997). Hauptunterschied zum Säuger ist deren Begrenzung auf Frequenzen unterhalb von

ca. 10 kHz. SOAE dieser Frequenz findet man bei der Schleiereule. Außerdem sind hier SOAE in ihrem Amplitudenspektrum weniger scharf ausgeprägt als bei Säugern. Bei Säugern sind SOAE bis etwa 62 kHz dokumentiert (Fledermaus: Kössl 1994), was zeigt, dass im Säugerinnenohr eine extrem schnelle Schallverstärkung stattfinden kann, passend zum Hörvermögen vieler Säugetiere, das in den Ultraschallbereich ausgeweitet ist.

Eigenschaften frequenzanalyisierender Algorithmen, üblicherweise wird der FFT- (Fast-Fourier-Transform) Algorithmus verwendet, tauchen in einem gemessenen Frequenzspektrum die Klirrranteile im regelmäßigen Abstand zu den Stimulusfrequenzen auf. Verwendet man zwei Reintonstimuli unterschiedlicher Frequenz ( $f_1$ ,  $f_2$ ), dann sind die Verzerrungsprodukte bei Frequenzen von  $(n+1)f_1 - nf_2$  und  $(n+1)f_2 - nf_1$  messbar. In den bislang untersuchten



**Abb. Exkurs 1: OAE bei Wirbeltieren. Spontane OAE (Abbildung unten links) sind ohne Schallreizung mit einem Mikrofon am Trommelfell messbar und treten in Form von Amplitudenmaxima bei spezifischen Tonfrequenzen auf. Distorsionsprodukt OAE (unten rechts) entstehen bei Reizung mit zwei Reintönen in Form zusätzlicher Maxima (in rot) an definierten Frequenzen im gemessenen Amplitudenspektrum. Sie werden in der Überlappungszone der beiden Reinton-Wanderwellen auf der Basilarmembran durch nichtlineare Verstärkung in den äußeren Haarzellen (ÄHZ) erzeugt (siehe Schema oben).**

Eine andere Art otoakustischer Emissionen sind sogenannte „wave-dependent“ OAE. Dies sind evozierte Emissionen, die bei Reizung mit mehreren Reintönen von unterschiedlicher Frequenz entstehen. Sie bestehen aus Klirrranteilen, auch „Distorsionsprodukt-OAE“ (DPOAE) genannt, die aufgrund nichtlinearer Eigenschaften der Schallverarbeitung im Innenohr erzeugt werden. Der cochleäre Verstärker arbeitet nichtlinear – leise Schallreize werden höher verstärkt als laute. Dadurch kann sich eine Verzerrung der Signalform ergeben, die in einem Frequenzspektrum in Form von zusätzlichen Frequenzanteilen erfassbar ist (s. Abbildung, rechts unten). Aufgrund der

Gehörorganen ist die  $2f_1 - f_2$  OAE am lautesten (siehe Abbildung, rechts unten). Klirren ist der Preis, der für eine hochempfindliche Schallverstärkung zu zahlen ist. Während viele technische Systeme, wie HiFi-Anlagen, Klirren dann erzeugen, wenn sie übersteuert werden und in Sättigung geraten, produziert das Innenohr Klirren vor allem für leise Eingangsschallpegel, bei denen der cochleäre Verstärker maximal aktiv ist. Im Gegensatz zu „place-dependent OAE“, die – wenn sie überhaupt auftreten – meist nur auf eine Frequenz beschränkt sind, sind DPOAE, bei Wahl geeigneter Stimulusfrequenzen, im gesamten Hörbereich eines Tieres messbar. >>>



### Fortsetzung Exkurs 1

Sie bieten deshalb sehr viel umfassendere Information über cochleäre Verstärkungsprozesse. Aus diesem Grund werden sie auch zunehmend im klinischen Bereich, z.B. bei der Untersuchung von Hörschäden bei Neugeborenen, eingesetzt. Es ist wichtig zu betonen, dass jedes nichtlineare System Frequenzverzerrungen erzeugen kann, unabhängig davon, ob die Nichtlinearität durch aktive zelluläre Prozesse oder durch passive Systemeigenschaften bedingt ist, wie sie z.B. in einer übermäßigen Auslenkung des Trommelfells oder der Mittelohrknöchelchen bei extrem lautem Schall vorliegen könnten. Im Falle des Innenohrs von Wirbeltieren sind, wie eine Reihe von Studien zeigen, sensitive DPOAE jedoch eindeutig durch aktive und stoffwechselabhängige Verstärkungsprozesse in den äußeren Haarsinneszellen bedingt.

Otoakustische Emissionen sind ein Nebenprodukt dieses cochleären Verstärkers und ermöglichen es, seine Funktion detailliert zu untersuchen (siehe Exkurs 1). Da otoakustische Emissionen nicht nur bei Säugtieren sondern auch bei anderen Vertebraten auftreten, deren auditorische Haarzellen kein elektromotorisch wirksames Prestin enthalten, sind in diesen Fällen andere zelluläre Verstärkungsprozesse involviert (siehe unten).

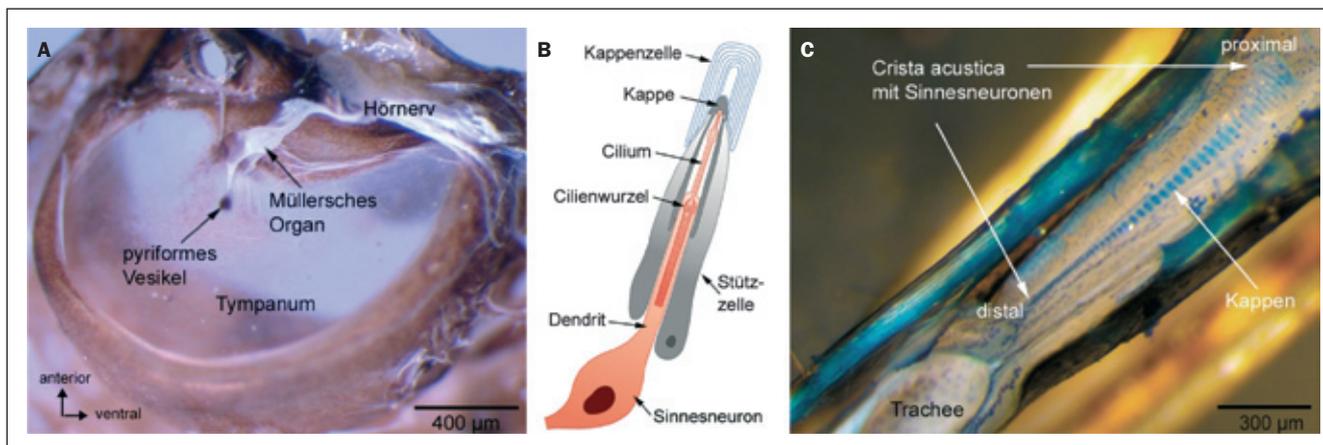
### Die Gehörgänge von Insekten

Viele Insekten haben ein gutes Hörvermögen, das zur Wahrnehmung von Beute oder Feinden und zur innerartlichen Kommunikation eingesetzt wird. Im Vergleich zu empfindlichen Wirbeltierohren sind die oft winzigen Insektenhörorgane etwa um 20-30 dB (Faktor 10-15) weniger empfindlich. Anders als bei den Nichtsäugern unter den Wirbeltieren ist ihr Hörvermögen allerdings nicht auf relativ tiefe Tonfrequenzen unterhalb von 10 kHz beschränkt, sondern reicht bei vielen Insektenarten bis weit in den Ultraschallbereich. Das gilt für viele Nachtfalter und beispielsweise auch für bestimmte südamerikanische Laubheuschrecken, die mit Gesängen von 130 kHz den Hochfrequenzrekord für Schallaussendung bei Arthropoden halten (Montealegre-Z et al. 2006). Zu ihrem Gehör ist zwar noch nichts bekannt, aber es ist zu vermuten, dass sie ihre eigenen Gesänge auch hören.

Die Struktur von Hörorganen der Insekten unterscheidet sich stark vom Wirbeltierinnenohr. Man unterscheidet Tympanalorgane, bei denen die Sinnesneurone direkt an oder in der Nähe eines Trommelfells sitzen, von Gehörantennen, an deren Basis die Sinnesneurone ringförmig angeordnet sind. Tympanalorgane nehmen Schalldruck bis in den Ultraschallbereich wahr und sind prinzipiell in der Lage, auch Schall in Form von otoakustischen Emissionen zu erzeugen, da sie über ein steif aufgespanntes Trommelfell verfügen. Sie finden sich am Körper oder in den Beinen von Heuschrecken und Nacht-

faltern. Antennenorgane hingegen nehmen im akustischen Nahfeld Luftmolekülbewegungen wahr und befinden sich am Kopf von Fliegen und Mücken.

Bei Wanderheuschrecken (Abbildung 1A) sind etwa 80 Sinnesneurone zu einem peripheren Sinnesganglion zusammengefasst (sog. „Müllersches Organ“). Wie bei allen Insektenhörorganen sind die Sinnesneurone skolopidiale Mechanorezeptoren mit einem sensorischen Cilium, das über einen massiven Wurzelapparat im Dendriten des Neurons verankert ist (Abbildung 1B). Der Bereich der Cilienspitze, der in eine Kappe eingepasst ist, die von einer Kappenzelle abgesondert wird, ist für die Schalltransduktion verantwortlich. Im Ganglion des Müllerschen Organs liegen die Sinneszellsomata, deren Dendriten in mehreren Strängen verschiedene Ansatzpunkte auf dem Trommelfell erreichen. Sie sind dort über ihre Kappenzellen an das Tympanum gekoppelt. Das Trommelfell weist dickere und dünnere Bereiche auf, die bei akustischer Reizung mit tiefen versus hohen Tonfrequenzen jeweils maximal auslenkbar sind. Die Tonfrequenz, auf welche die Sinneszellen optimal reagieren, hängt also vom Ansatzpunkt ihrer Dendriten auf dem Trommelfell ab. So befindet sich zum Beispiel das pyriforme („birnenförmige“) Vesikel als Ansatzstruktur für eine Gruppe von Sinneszellen auf einem Bereich dünner Trommelfellmembran (Abbildung 1A); und entsprechend reagieren diese Zellen bevorzugt auf hohe Tonfrequenzen ab etwa 10 kHz. Andere Dendriten enden auf dickeren Stellen des Tympanums und sind



**Abb. 1: Wichtige anatomische Kennzeichen der Tympanalorgane von Heuschrecken. (A) Ohr aus dem 1. Abdominalsegment einer Wanderheuschrecke (*Locusta migratoria*) von innen gesehen. Das relativ große Trommelfell (Tympanum) ist in einem Cuticularing aufgespannt. Am Rand sitzt das sensorische Ganglion (Müllersches Organ), von dem aus die Sinneszellendendriten zu unterschiedlich dicken Bezirken des Tympanums auslaufen. Die Dendriten im pyriformen Vesikel inserieren in einem relativ dünnen (hier hellen) Membranbezirk. (B) Schematische Darstellung eines Skolopidiums mit primärer Sinneszelle und Hilfszellen (Stütz- und Kappenzelle). Der Dendrit der Sinneszelle bildet in seinem distalen Teil ein Cilium aus. (C) Tympanalorgan einer tropischen Laubheuschrecke (*Mecopoda elongata*) nach Öffnung der Vorderbeintibia und Anfärbung mit Methylenblau. Die Crista acustica aus ca. 40 skolopidialen Sinneszellen liegt dorsal auf einer Hörtrachee und ist Teil eines größeren mechanosensorischen Organkomplexes im Insektenbein.**

für Tieffrequenzwahrnehmung zuständig. Im Tympanalorgan der Wanderheuschrecke findet also eine mechanische Frequenzfilterung und Erfassung von unterschiedlichen Tonfrequenzen statt, ähnlich wie dies auch bei Wirbeltieren der Fall ist (Michelsen 1971; Römer 1976; Windmill et al. 2005).

Eine tonotope Abbildung der Tonfrequenzen entlang einer sich kontinuierlich in ihren mechanischen Filtereigenschaften ändernden Struktur, wie sie zum Beispiel die Basilarmembran der Wirbeltiercochlea darstellt, findet sich im Tympanalorgan von Laubheuschrecken (Abbildung 1C). Hier sitzen die skolopidialen Sinneszellen in einem langgezogenen Sinnesorgan, der *Crista acustica*, im Inneren der Vorderbeintibia. Diese „Beinohren“ werden akustisch angeregt über eine Schalleintrittsöffnung im Thorax der Tiere. Eine Tracheenröhre („akustische Trachee“) leitet den Schall dann in die Beine bis zum Sinnesorgan. Nahe beim Sinnesorgan befinden sich zwar Tympana, die aber nicht direkt von den Dendriten kontaktiert werden und vermutlich weniger der Schallanregung als vielmehr dem Druckausgleich dienen. Die skolopidialen Sinnesneurone mit ihren dendritischen Kappen sind senkrecht zur Längsrichtung der *Crista acustica* angeordnet, und in ihren Abstimmereigenschaften ist eine tonotope Frequenzverarbeitung nachweisbar (Oldfield 1988; Stumpner 1996). Neurone, die am besten auf hohe Frequenzen reagieren, liegen distal im Organ, solche, die auf tiefe Frequenzen reagieren, befinden sich proximal. Ein Blick auf das Organ verrät auch gleich, welche morphologischen Strukturen für diese tonotope Anordnung verantwortlich sein könnten, denn von proximal nach distal werden die dendritischen Kappen zunehmend kleiner (Abbildung 1C) und können damit vermutlich besser auf hohe Frequenzen reagieren. Dies schließt natürlich nicht aus, dass hier noch andere, sich tonotop ändernde Sinneszellcharakteristika vorliegen.

### Klirrende Tympanalorgane

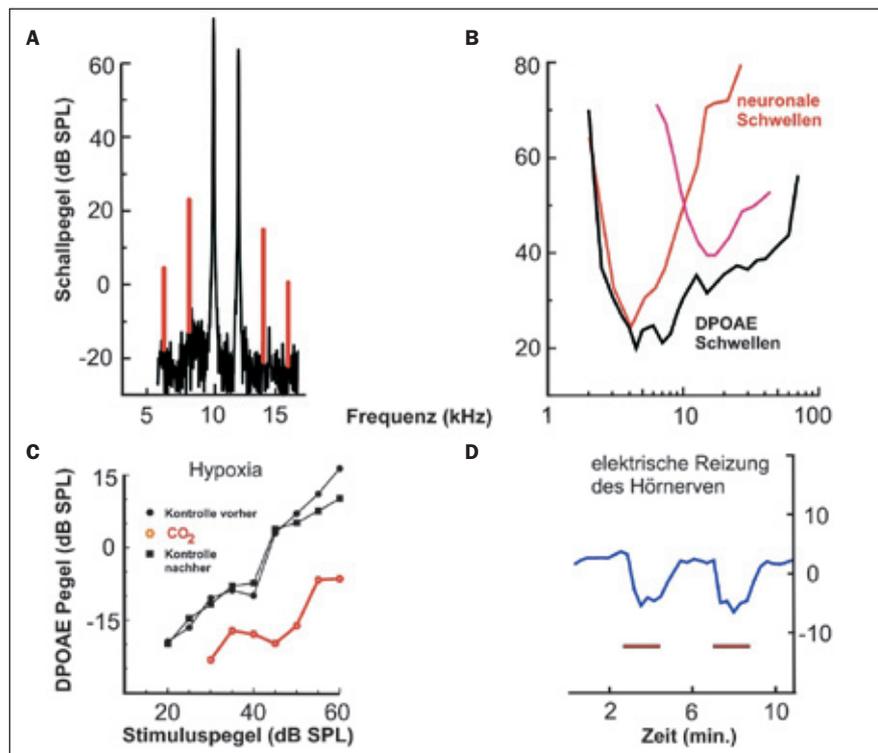
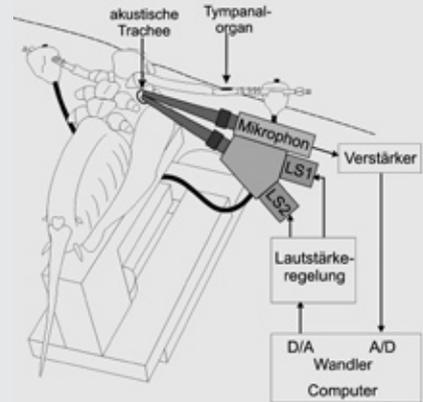
Aufgrund einer nichtlinearen Schallverstärkung im Innenohr von Wirbeltieren (d.h. leise Schallsignale werden mehr verstärkt als laute) kommt es zu einer Verformung der Wellenform der Signale und zur Erzeugung von Klirrannteilen, die das Ohr verlassen und am Trommelfell messbar sind (Distorsionsprodukt Otoakustische Emissionen: DPOAE; siehe Exkurs 1). Bei Schallstimulation mit Reintönen erzeugen auch Tympanalorgane deutliche DPOAE (Abbildung 2), die in vieler Hinsicht vergleichbare Eigenschaften zu denjenigen aus Wirbeltierinnenohren haben

## Exkurs 2

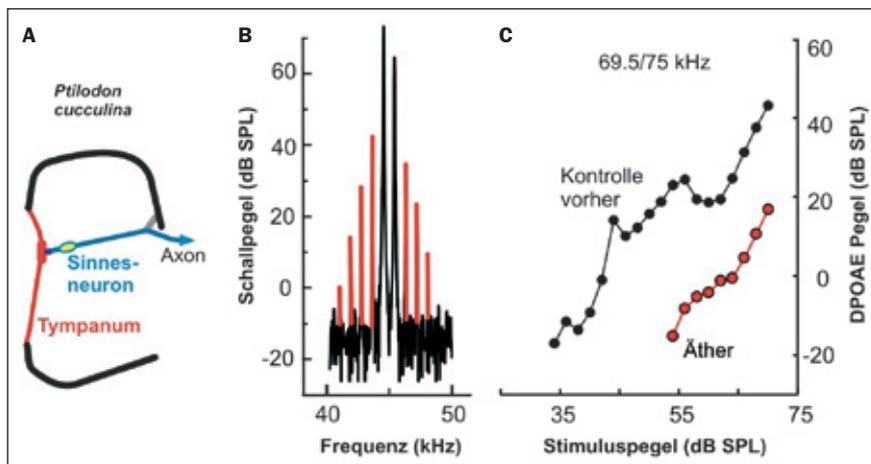
### Messung von DPOAE aus dem Ohr von Laubheuschrecken

Zur Messung von DPOAE bei *Mecopoda* werden zwei Reintonsignale von D/A-Wählern im PC erzeugt und nach Lautstärkeregelung und Endverstärkung auf zwei Lautsprecher verschaltet. Die Trennung beider Kanäle ist wichtig zur Verhinderung von Verzerrungsprodukten im schallerzeugenden System. Das Schallsignal, welches sowohl die beiden Stimuli als auch DPOAE enthält, wird mit einem Mikrofon gemessen und nach Verstärkung in einen A/D-Wandler eingespeist. Schallerzeugender und schallerfassender Kanal sind in einem Koppler vereint, dessen Spitzenöffnung auf die Dimension der Eingangsoffnung der akustischen Trachee (Spirakel) von *Mecopoda* angepasst ist.

Der Vorteil dieser Messanordnung besteht darin, dass der Koppler fest am prothorakalen Spirakel angebracht ist und das Tympanalorgan mit der *Crista acustica*, das sich in der Tibia der Vorderbeine befindet, frei zugänglich für experimentelle Manipulationen bleibt.



**Abb. 2:** DPOAE-Messungen am Tympanalorgan der Wanderheuschrecke. (A) DPOAE-Spektrum bei akustischer Reizung mit zwei Tönen von 10 und 12 kHz; die hier rot markierten Verzerrungsprodukte erreichen Schalldrücke, die sich deutlich vom Grundrauschen abheben. (B) Hörschwellenkurve, die für 2 Neuronengruppen bestimmt wurde (nach Römer 1976) und Schwellenschalldrücke zur Auslösung von DPOAE im Hörbereich der Tiere (nach Kössl und Boyan 1998). (C) Der Abfall der DPOAE-Pegel bei  $\text{CO}_2$ -Behandlung (Hypoxia) demonstriert die Bedeutung von aktivem Stoffwechsel für die Ausbildung von otoakustischen Emissionen (aus Kössl und Boyan 1998). (D) Kurze elektrische Reizung des Hörnerven, in dem die Axone der primären Sinneszellen verlaufen, verursacht eine vorübergehende Reduktion des Emissionspegels (nach Möckel et al. 2007).



**Abb. 3:** Das metathorakale Tympanalorgan der Motte *Ptilodon* (Notodontidae) hat nur ein auditorisches Neuron; dennoch produziert das Ohr deutliche DPOAE im hochfrequenten Bereich. (A) Schematisierte Darstellung des Organs, in dem der Dendrit einer skolopidialen Sinneszelle an das Tympanum gekoppelt ist. (B) Spektrum der DPOAE (rot markiert) mit Tonreizen im Bereich von 45 kHz. (C) Wachstumsfunktionen vor und nach Betäubung mit Äther; die beiden Tonstimuli lagen bei 69,5 kHz (f1) und 75 kHz (f2) (verändert nach Kössl et al. 2007).

(Kössl und Boyan 1998; Coro und Kössl 1998). Messbar sind diese Emissionen mit Hilfe von Sonden, die auf den Durchmesser des Tympanums angepasst sind und einen Stimulationskanal mit zwei Lautsprechern sowie einen Aufnahmekanal mit einem Mikrofon enthalten (zur Methode siehe auch Exkurs 2). Bereits bei leisen Schallpegeln nahe der Hörschwelle von Heuschrecken oder Nachtfaltern lassen sich DPOAE induzieren, wobei die 2f1-f2-Emission am lautesten ist. Dies macht deutlich, dass die Bewegung des Tympanums auch an der Hörschwelle nichtlinear ist. Bestimmt man für unterschiedliche Stimulusfrequenzen den Stimuluspegel, der ausreicht, um eine DPOAE bestimmter Amplitude (z.B. -10 dB SPL) zu induzieren, kann man DPOAE-Schwellenkurven errechnen (Abbildung 2B). Sie erlauben Aussagen zur frequenzspezifischen Sensitivität der nichtlinearen Mechanik des Tympanalorgans und gleichen den neuronalen Schwellendaten. Man kann also, ähnlich wie bei Säugern und insbesondere beim Menschen, auch bei Insekten DPOAE-Messungen zur objektiven Hörschwellenbestimmung verwenden.

Insekten-DPOAE sind anfällig für Manipulationen, die den physiologischen Zustand des Tiers verändern, wie bestimmte Anästhetika oder eine Hypoxie (Abbildung 2C). Auch bei Säugetieren kommt es zu einer deutlichen Abnahme der DPOAE-Pegel bei derartigen Eingriffen. Die Effekte werden dort auf eine Blockierung des cochleären Verstärkers zurückgeführt. Bei Insekten ist noch unbekannt, ob die Sinneszellen und

potenzielle Verstärkungsmechanismen von solchen Manipulationen betroffen sind. Die Tatsache, dass skolopidiale Sinnesneurone im Gegensatz zu Haarsinneszellen ein eigenes Axon haben, das direkt zum Zentralnervensystem zieht, bietet die Möglichkeit, in einiger Entfernung zum Sinnesorgan die Axone elektrisch zu stimulieren, ohne dass dessen Mechanik beeinträchtigt wird. So kann getestet werden, ob z.B. eine induzierte Veränderung des Membranpotenzials Auswirkungen auf die Erzeugung von otoakustischen Emissionen hat. In der Tat kommt es während elektrischer Stimulation zu reversiblen Änderungen der DPOAE-Amplitude (Abbildung 2D). Dies ist ein direkter Hinweis, dass mechanische Vorgänge in den Sinnesneuronen selbst an der Erzeugung der Emissionen beteiligt sind.

Die Zahl der Sinneszellen in einem Tympanalorgan kann je nach Spezies stark variieren. Die einfachsten Organe finden sich bei bestimmten Nachtfaltern wie *Ptilodon cucullina* oder *Phalera* sp. aus der Gruppe der Notodontidae. Hier wird das Trommelfell über eine elastische Verbindung zwischen dem Zentrum der Membran und dahinterliegenden Skelettelementen gespannt, und nur eine einzige Sinneszelle sitzt an der Verbindung zwischen Spannelement und Tympanum (Abbildung 3A). Entsprechend dieser strategisch wichtigen Position sollte diese Zelle auf jegliche Auslenkungen des Tympanums empfindlich reagieren. Falls die skolopidiale Sinneszelle über aktive Verstärkerkomponenten verfügt, sollte sie auch in der Lage sein, die Mechanik des

Tympanums direkt zu beeinflussen. Selbst das simple Ohr von Notodontiden sendet prominente DPOAE aus (Abbildung 3B), deren Wachstumscharakteristik vergleichbar ist mit den DPOAE von komplexeren Tympanalorganen und von Wirbeltierohren. Bei Betäubung des Tieres mit Äther sinken die DPOAE-Amplituden deutlich ab (Abbildung 3C), was für die Beteiligung aktiver metabolischer Vorgänge an der Emissionserzeugung spricht.

Genauere Informationen zum Ort der Erzeugung von DPOAE lassen sich am Tympanalorgan der Wanderheuschrecke mit einer lokalen Läsion der Anheftungspunkte von Sinneszellendriten am Tympanum ermitteln (Abbildung 4). Die Auslenkung des Tympanums erfolgt frequenzspezifisch in Form von Wanderwellen (Abbildung 4A; Windmill et al. 2005). Am pyriformen Vesikel werden maximale Auslenkungen durch hohe Tonfrequenzen ab etwa 12 kHz induziert (im hier gezeigten Beispiel 26 kHz). An einer anderen Ansatzstelle von Sinneszellendriten, dem „folded body“, sind tympanale Auslenkungen nur mit tiefen Tonfrequenzen erzielbar (im hier angegebenen Fall 3,3 kHz; Abbildung 4B). Durchtrennt man per mechanischer Mikroläsion die Sinneszellendriten zwischen dem pyriformen Vesikel und dem sensorischen Ganglion (Abbildung 4C), dann beobachtet man eine drastische Reduktion von hochfrequenten DPOAE. Bei zusätzlicher Läsion des „folded body“ und des dahinterliegenden sensorischen Ganglions sind die DPOAE über den gesamten Frequenzbereich deutlich reduziert (Abbildung 4D). Dies macht deutlich, dass die mechanosensorischen Neurone frequenzspezifisch an der DPOAE-Aussendung beteiligt sind.

### Vibrierende Antennenorgane

Für Tympanalorgane ist damit aber noch nicht ganz geklärt, dass tatsächlich ein aktiver auditorischer Verstärkungsmechanismus in den Sinneszellen vorliegt und wie ein solcher Verstärker beschaffen ist. Die Arbeitsgruppe von Martin C. Göpfert (derzeit in Köln) wies mit laservibrometrischen Messungen am Antennenorgan von *Drosophila* nach, dass in diesem Organ tatsächlich mechanische Energie erzeugt wird. Ein überzeugender Beweis einer solchen aktiven Kräfteerzeugung sind spontane Vibrationen der Hörantennen bei Frequenzen unterhalb von etwa 1000 Hz. Sie lassen sich nach pharmakologischer oder genetischer Manipulation induzieren (Göpfert und Robert 2003; Übersicht: Göpfert 2007). Derartige Vibrationen der

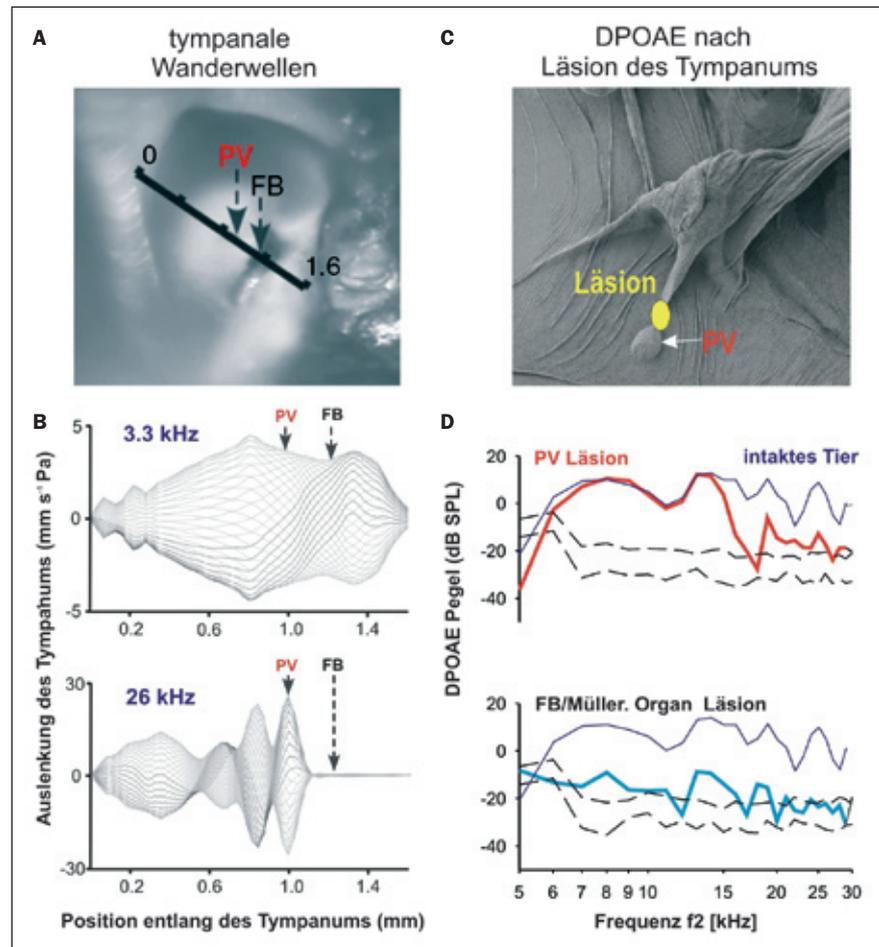
Antennen erzeugen zwar nicht ausreichend Schalldruck, um als spontane OAE messbar zu sein (was am Fehlen eines Trommelfells liegt); die zellulären Mechanismen könnten jedoch ähnlich zu denjenigen in Tympanalorganen sein. Bei *Drosophila* sind Proteine aus der TRP-Familie (Transient-Receptor-Potential) für die sensorische Transduktion verantwortlich (Übersicht: Kernan 2007), ähnlich wie bei Vertebraten. Durch Deletion der Gene für den Transduktionskanal oder daran gekoppelter Proteine kann die spontane Vibration deutlich erhöht oder reduziert werden (Göpfert und Robert 2003; Göpfert et al. 2005, 2006). Die skolopidialen Sinneszellen von *Drosophila* enthalten interessanterweise auch ein prestin-homologes Protein (Weber et al. 2003). Ob dieses Protein, ähnlich wie das Prestin in den äußeren Haarzellen der Säugercochlea, für eine mechanische Krafterzeugung relevant ist, ist nach gegenwärtiger Lage der Dinge eher unwahrscheinlich. In skolopidialen Sinnesorganen scheint es so zu sein, dass die Krafterzeugung über Proteine stattfindet, die mit dem Transduktionsapparat assoziiert sind.

#### Vergleich aktiver Ohrmechanik in Wirbeltieren und Insekten

Bei Reptilien und Vögeln beruhen aktive mechanische Verstärkungsprozesse im Innenohr nicht auf Zellkörpermotilität, sondern auf einer Motilität des Haarbündels (Stereovilli) sensorischer Haarzellen. Dementsprechend sind die Stereovilli auch verantwortlich für die Erzeugung spontaner OAE (Manley et al. 2001; Übersicht: Manley 2001). Bei Säugern hingegen scheint eine auf Prestin basierende Motilität des Zellkörpers der äußeren Haarzellen der entscheidende Faktor für eine cochleäre Verstärkung zu sein, was allerdings nicht ausschließt, dass auch Verstärkungsprozesse in den Stereovilli vorliegen können (Übersicht: Fettiplace und Hackney 2006). Prestin reagiert bei Veränderung des Membranpotenzials nach erfolgter Transduktion mit einer schnellen Konformationsänderung und dadurch verkürzt oder verlängert sich das Zellsoma. Dieser Prozess ist sehr schnell und kann auch höchsten Tonfrequenzen folgen. Beim Meerschweinchen wurde entsprechende Elektromotilität bis zu etwa 70 kHz gemessen (Frank et al. 1999), und es ist zu vermuten, dass manche echoortenden Säuger, deren Hörbereich bis über 200 kHz reicht, auch in diesem Grenzbereich einen cochleären Verstärker benutzen, der auf Prestin basiert. Wie im Exkurs 1 erwähnt, sind spontane OAE bei

einer Fledermausspezies bis zu etwa 62 kHz messbar (Abbildung 5 und Exkurs 1). Verstärkungsprozesse in den Stereovilli hingegen, die Interaktionen zwischen dem Transduktionskanalmolekül und Aktin/Myosin-ähnlichen Proteinen umfassen, wie sie auch wichtig für Adaptationsvorgänge sind, arbeiten langsamer. So sind aktive Haarbündelbewegungen, Adaptationsvorgänge oder auch elektrisch induzierte OAE

bei den bislang untersuchten Nichtsäugern auf Frequenzen unterhalb ca. 3 kHz beschränkt (Manley et al. 2001; Fettiplace et al. 2001). Übrigens haben potenzielle aktive Haarbündelprozesse bei Säugern ein ähnliches Frequenzlimit (Ricci et al. 2005; Übersicht: LeMasurier und Gillespie 2005). Entsprechend hat der Hörbereich von Nichtsäugern eine deutlich tiefere obere Grenzfrequenz (Abbildung 5). Spitzenreiter



**Abb. 4:** *Locusta migratoria*; Wanderwellen und DPOAE vor/nach Läsionen. (A) Einblick auf das Tympanum, die durchgezogene Linie gibt Messpositionen an (in mm) für die Erfassung der Bewegung des Tympanums mit einem Laservibrometer. Markiert ist die Position des pyriformen Vesikels (PV) und des „folded body“ (FB). (B) Schallreizung mit Reintönen erzeugt ein wanderwellenähnliches Bewegungsmuster entlang der Messpositionen. Bei Stimulierung mit tiefrequenten Signalen (3.3 kHz) werden sowohl PV als auch FB deutlich ausgelenkt. Hochfrequente Signale (26 kHz) führen zu einem Amplitudenmaximum am PV, ohne dass der FB ausgelenkt wird. (C) Blick auf die Innenseite des Tympanums mit dem Müllerschen Organ und PV. Der PV wurde durch eine Läsion vom Müllerschen Organ entkoppelt. (D) Sogenanntes DP-gram: Dargestellt sind DPOAE-Pegel für Schallstimuli konstanter Lautstärke und unterschiedlicher Frequenz ( $f_2$ ). Das Frequenzverhältnis  $f_2/f_1$  war auf 1.08 eingestellt. Nach Läsion des PV sinken DPOAE oberhalb von etwa 15 kHz fast auf den Pegel des Umgebungsrauschens ab (gestrichelte Linien: Mittelwert und SD des Rauschens). Bei einer nachfolgenden Läsion des FB und Müllerschen Organs am selben Präparat sinken die DPOAE-Pegel im gesamten Frequenzbereich. Dies macht deutlich, dass hochfrequente DPOAE nur bei intakter Verbindung der Sinneszellen zum PV entstehen. (A,B verändert nach Windmill et al. 2005; C,D verändert nach Möckel et al. 2007).

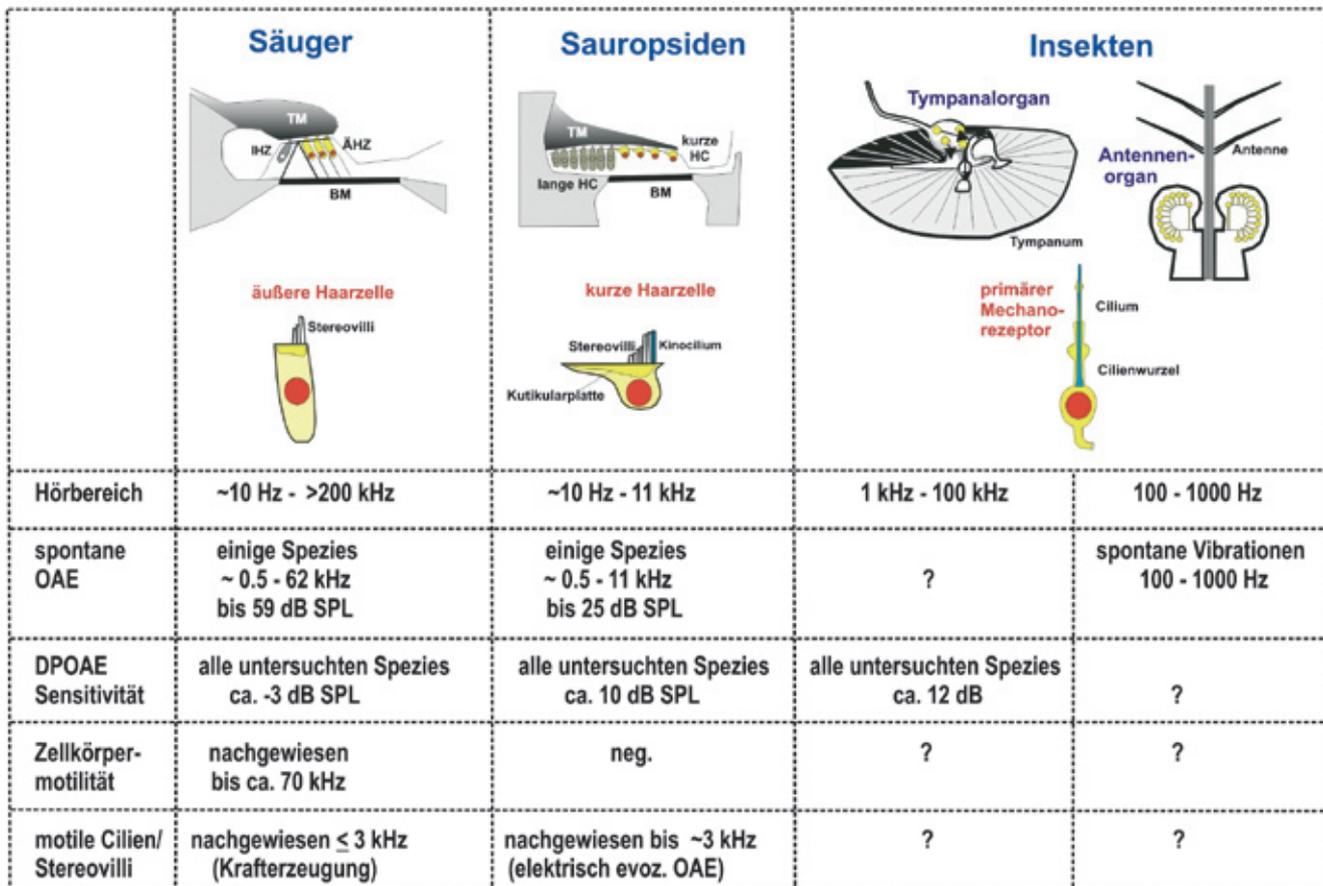


Abb. 5: Wichtige anatomische und bioakustische Parameter im Vergleich von Säuger-, Sauropsiden- und Insektenohren. HZ, Haarzelle; ÄHZ, äußere Haarzelle; IHZ, innere Haarzelle; BM, Basilarmembran; TM, Tectorialmembran. Angabe der Hörbereiche erfolgt ohne Berücksichtigung von Infraschallwahrnehmung. Als Sensitivität für DPOAE wird der für die Tiergruppe minimale Stimuluspegel angegeben, der ausreicht zur Erzeugung einer DPOAE von -10 dB SPL. Daten zum Frequenzverhalten aus Frank et al. 1999 (Zellkörpermotilität von ÄHZ), Ricci et al. 2005 (Säuger: Stereocilienbündel), Manley et al. 2001 (elektrisch evozierte OAE in Reptilien).

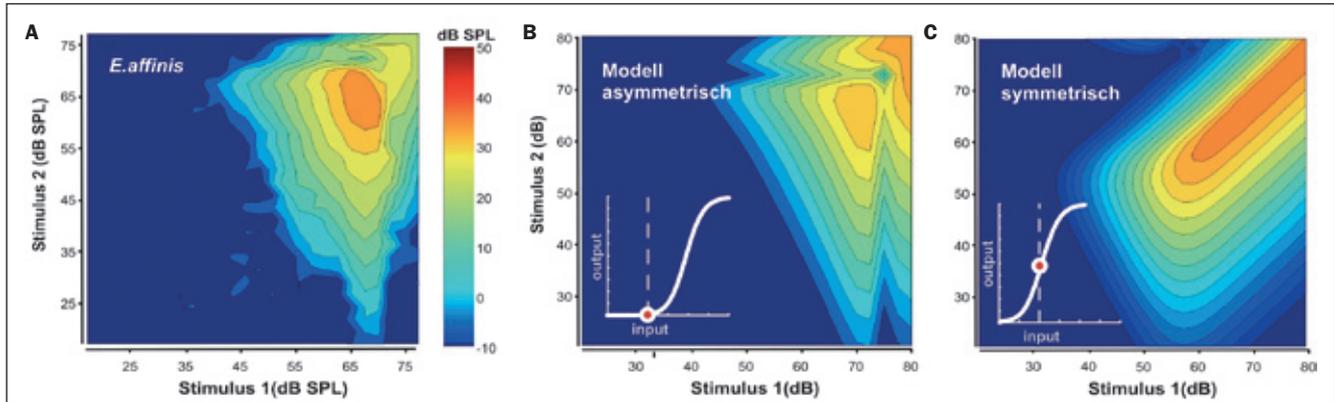
in Bezug auf hochfrequente Hörverarbeitung bei Nichtsäugern ist die Schleiereule mit einem Hörbereich, der sich bis zu etwa 11 kHz erstreckt. Bei dieser Eule sind auch spontane OAE bei etwa 9-11 kHz messbar (Exkurs 1). Bei Wirbeltieren gibt es also zwei cochleäre Verstärkungsprozesse, ein Haarbündel-Mechanismus, der tiefe Frequenzen abdeckt, und ein Zellsoma-Mechanismus, der sowohl tiefe als auch sehr hohe Tonfrequenzen verstärken kann.

Insekten haben im tieffrequenten Bereich bis etwa 1000 Hz einen mechanischen Ohrverstärker, der in Analogie zu den Verhältnissen bei Nichtsäugern auf einem cilienbasierten Mechanismus begründet zu sein scheint. Dieser ist in den Antennenorganen von *Drosophila* sehr schön demonstriert. Für Tympanalorgane, die wie das Ohr von Säugern sehr hohe Tonfrequenzen bis über 100 kHz verarbeiten können, ist ein mechanischer Verstärker, der auf den Proteinen des Transduktionsapparates im Cilium beruht, noch nicht nachgewiesen (Abbildung

5). Falls die Krafterzeugung ähnlich wie in den Antennenorganen abläuft, dann wäre dieser Verstärkungsmechanismus deutlich schneller als alle anderen potenziellen aktiven Mechanismen, die im Cilium oder in Stereovilli beschrieben sind. Anders als bei den Antennenorganen konnten bei Tympanalorganen bislang keine spontanen Vibrationen oder OAE demonstriert werden. Sie wären der direkteste Hinweis auf eine aktive Mechanik. Nichtsdestoweniger zeigen die DPOAE-Messungen von Tympanalorganen, dass die Sinneszellen zu einer empfindlichen nichtlinearen mechanischen Verarbeitung leiser Schallstimuli in der Lage sind und dass diese Verarbeitung auf die Schwingungseigenschaften des Tympanums zurückwirkt.

Auch wenn ein potenzieller, aktiver Mechanismus nicht direkt am Transduktionsapparat ansetzt, sondern im Zellsoma lokalisiert ist, wie z.B. Prestin beim Säuger, so hängt er dennoch entscheidend von der Transduktion und dem dadurch

entstehenden Rezeptorpotenzial ab. Eine spannungsabhängige mechanische Deformation der Zelle, die dazu beiträgt, das Rezeptorpotenzial zu erhöhen, das den Prozess treibt, stellt ein klassisches verstärkendes Rückkopplungssystem dar. Wenn der Verstärkungsfaktor im Rückkopplungszweig nahe 1 ist, neigt ein solches System auch zu spontanen Oszillationen. Die Erzeugung von DPOAE bei Säugern ist gut modellierbar, wenn man als nichtlineares Element die Kennlinie der Transduktionsströme in Haarsinneszellen verwendet. Derartige S-förmige Transduktionskennlinien werden üblicherweise mit Boltzman-Funktionen dargestellt und reflektieren die pegelabhängigen Eigenschaften von DPOAE gut. Für die realitätsnahe Simulation von DPOAE beim Säuger ist bereits eine einzige Boltzman-Funktion ausreichend (Lukashkin et al. 2002). Vergleicht man nun die Pegelabhängigkeit von DPOAE bei Tympanalorganen mit derjenigen der Säugercochlea und simuliert diese Pegelabhängigkeit mit



**Abb. 6:** DPOAE-Erzeugung beim Nachtfalter *E. affinis* (A) und in einem Modell, das auf einer nichtlinearen Boltzmann-Funktion beruht (B, C). Derartige Funktionen werden verwendet, um Transduktionseigenschaften von Wirbeltierhaarzellen zu beschreiben. Dargestellt ist die DPOAE-Amplitude (farbcodiert) in Abhängigkeit von der Amplitude der beiden Reintonstimuli. Die Insekten Daten sind gut repräsentiert durch das Modell, wenn der Arbeitspunkt oder Nullpunkt der Boltzmann-Funktion stark asymmetrisch liegt (siehe rote Markierung im Inset B). Die bei symmetrischer Lage des Arbeitspunktes simulierten DPOAE (C) sind ähnlich zu Datensätzen aus dem Säugerohr (verändert nach Kössl und Coro 2006).

einer Boltzmann-Funktion, dann stößt man auf einen deutlichen Unterschied zwischen beiden Tiergruppen. Im Falle des Tympanalorgans von Nachtfaltern ergibt sich bei Variation der beiden Stimuluspegel ein dreieckig geformter DPOAE-Anregungsbereich (Abbildung 6A), der durch eine Boltzmann-Funktion simulierbar ist (Abbildung 6B), allerdings nur dann, wenn der Nullpunkt oder Arbeitspunkt der Funktion stark asymmetrisch liegt. Verwendet man eine symmetrische Boltzmann-Funktion, ist der DPOAE-Anregungsbereich anders geformt (Abbildung 6C) und gleicht demjenigen, der bei Säugern messbar ist (siehe z.B. Kummer et al. 2000). Auch direkt in tympanalen Sinneszellen von Heuschrecken gemessene Rezeptorpotenziale zeigen nur eine Depolarisation, aber keine Hyperpolarisation bei akustischer Reizung (Hill 1983), was ebenfalls durch eine stark asymmetrische Kennlinie erklärbar ist. Das einzelne Cilium von skolopidialen Sinnesneuronen scheint also bei der Transduktion etwas andere Randbedingungen zu erzeugen, als dies in Haarsinneszellen der Fall ist, obwohl im Transduktionsprozess ähnliche Proteine involviert sind.

## Literatur

- Göpfert, M.C. (2007): *Drosophila*-Antenne gewährt Einblicke in grundlegende Mechanismen des Hörens. *Neuroforum* 4/2007: 122-126.
- Kössl, M. und Boyan, G.S. (1998): Acoustic distortion products from the ear of a grasshopper. *J Acoust Soc Am* 104: 326-335.
- Kössl, M., Coro, F., Seyfarth, E.-A. und Nässig, W.A. (2007): Otoacoustic emissions from insect ears having just one auditory neuron. *J Comp Physiol A* 193: 909-915.

- Möckel, D., Seyfarth, E.-A. und Kössl, M. (2007): The generation of DPOAEs in the locust ear is contingent upon the sensory neurons. *J Comp Physiol A* 193: 871-879.
- Windmill, J.F.C., Göpfert, M.C. und Robert, D. (2005): Tympanal travelling waves in migratory locusts. *J Exp Biol* 208: 157-168.

Eine ausführliche Literaturliste kann bei den Autoren angefordert werden.

## Danksagung

Wir danken Frank Coro für anregende Diskussionen und Kerstin Röhr für die Vorlage zu Abbildung 1A. Unsere Arbeiten werden von der Deutschen Forschungsgemeinschaft unterstützt.

## Kurzbiografien

**Manfred Kössl:** Studium der Biologie an der LMU München und der Universität Tübingen. Diplom- und Doktorarbeit an der LMU München in der Abteilung von Prof. Gerhard Neuweiler, betreut von Dr. Marianne Vater. DFG-Postdoc an der University of Sussex, Brighton im Labor von Prof. Ian Russell (1988-1990). Wissenschaftlicher Assistent an der LMU München bei Prof. Gerhard Neuweiler (1990-1997). Habilitation in Neurobiologie 1994. Heisenbergstipendiat 1998-2001. Ab 2001 Professor für Zoologie und Leiter der Abteilung Neurobiologie und Biosensorik am Fachbereich Biowissenschaften der J.W. Goethe-Universität Frankfurt.

**Doreen Möckel:** Studium der Biologie an der J. W. Goethe-Universität Frankfurt. Seit

2005 Promotionsstudentin in der Abteilung Neurobiologie und Biosensorik unter der Betreuung von Prof. Dr. Manfred Kössl und Prof. Dr. E.-A. Seyfarth, gefördert durch ein Stipendium des Evangelischen Studienwerks e.V. Villigst.

**Melanie Weber:** Studium der Biologie an der J. W. Goethe-Universität Frankfurt mit abschließender Diplomarbeit in der Abteilung Neurobiologie und Biosensorik. Seit 2005 Promotionsstudentin unter der Betreuung von Prof. Dr. E.-A. Seyfarth und Prof. Dr. Manfred Kössl, gefördert durch ein Stipendium der Jürgen-Manchot-Stiftung.

**Ernst-August Seyfarth:** Biologie- und Psychologiestudium in Marburg, Massachusetts und München (LMU). Diplom und Promotion bei Friedrich G. Barth an der LMU; ab 1975 wissenschaftlicher Mitarbeiter am Fachbereich Biowissenschaften der J.W. Goethe-Universität Frankfurt; seit 1998 apl. Professor eben dort. Arbeiten zur Mechanorezeption und Neuroethologie von Arthropoden (speziell Spinnen) sowie zur biografischen Geschichte der Neurobiologie. Mehrere Forschungsaufenthalte in Mexiko, Kanada, Australien und USA.

## Korrespondenzadresse

**Prof. Dr. Manfred Kössl**  
 Institut für Zellbiologie und  
 Neurowissenschaft  
 J.W. Goethe-Universität  
 Siesmayerstr. 70A  
 60323 Frankfurt/Main  
 Tel.: + 49 (0) 69 798 247 61  
 E-Mail: koessler@bio.uni-frankfurt.de

## ARTIKEL DES QUARTALS

Vorgestellt von Dirk Feldmeyer, Institut Neurowissenschaften und Biophysik, INB-3 Medizin, Forschungszentrum Jülich GmbH, Leo-Brandt-Straße, 52425 Jülich

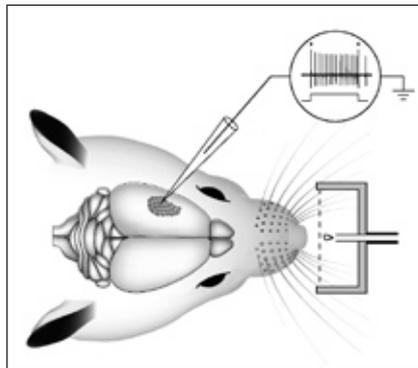
### Behavioural report of single neuron stimulation in somatosensory cortex

Arthur R. Houweling und Michael Brecht

Erschienen in *Nature*, 19 Dezember 2007; 451, 65-68 (2008).

In welcher Beziehung steht die neuronale Aktivität im Großhirn zur Wahrnehmung von Sinnesreizen? Ist für Wahrnehmungsprozesse das Zusammenwirken zahlreicher aktiver, d.h. Aktionspotenziale feuender Nervenzellen erforderlich oder haben kleine Neuronengruppen oder sogar einzelne Zellen einen Einfluss auf den Wahrnehmungsprozess? Welche Nervenzelltypen sind hier von besonderer Bedeutung? Dies sind zentrale Fragestellungen der neurowissenschaftlichen Forschung. Schon früh konnte gezeigt werden, dass die Mikrostimulationen weniger Neurone die Perzeption von Sinnesreizen beeinflusst. In einer Publikation aus dem Jahre 2004 zeigten Brecht und Mitarbeiter am motorischen Kortex, dass durch die intrazelluläre Stimulation weniger Aktionspotenziale in einzelnen Pyramidenzellen der Lamina 5 und 6 Schnurrhaarbewegungen ausgelöst werden können. Unbekannt war jedoch bisher, wie sich die Aktivität einzelner Nervenzellen in sensorischen Kortex auf die Wahrnehmung von Sinnesreizen auswirkt.

Arthur R. Houweling und Michael Brecht haben zu dieser Fragestellung jetzt einen wichtigen Beitrag geleistet. Die Forscher aus des Berliner Bernstein Center for Computational Neuroscience führten dazu Experimente am somatosensorischen System, genauer dem Schnurrhaar-‘Barrel’-Kortex-System der Ratte durch. Sie untersuchten den Einfluss, den die Stimulation einzelner Nervenzellen auf ein zuvor gelerntes Verhalten hatte. Dazu wurde folgende Aufgabe trainiert: Kleinere Neuronengruppen wurden *in vivo* mit einer extrazellulären Mikroelektrode gereizt. Antworteten die Ratten mit einem Zungenlecken, erfolgte eine Belohnung durch Wassergabe. Die Mikrostimulation entspricht dabei der Wahrnehmung eines taktilen Reizes über die Schnurrhaare. Die so trainierten Tiere



**Abb. 1: Versuchsaufbau und Stimulationsprotokolle. Die Stimulationsexperimente wurden am Barrel-Kortex wacher Ratten durchgeführt. Eine Antwort durch Zungenlecken wurde beim Durchbrechen einer Lichtschranke (gestrichelte Linie) gemessen. Die Reaktionszeit zwischen Stimulation und erstem Lecken wurde gemessen und bei korrekter Antwort Wasser zur Belohnung gegeben. Zur Einzelzellstimulation wurde über die Glaspipette ein Rechteckstrompuls gegeben, die Mikrostimulation erfolgte mittels einer hochfrequenten Pulsfolge über eine Wolframelektrode. Abbildung modifiziert nach Houweling und Brecht 2008.**

wurden nun auf ihre Fähigkeit untersucht, die Aktivität eines einzelnen Neurons wahrzunehmen. Um einzelne Neurone zu stimulieren, benutzten die Autoren die so genannte ‘juxtazelluläre’ Stimulation, bei der eine Glaspipette in unmittelbaren Kontakt mit dem Soma des Neurons gebracht wird, sodass durch entsprechend starke Strominjektion (200 ms Dauer) im Mittel etwa 15 Aktionspotenziale in dem untersuchten Neuron ausgelöst werden können; zur gleichzeitigen Mikrostimulation war an der Glaspipette eine Wolfram-Mikroelek-

trode angebracht um größere Neuronenpopulationen zu stimulieren (Abbildung 1, 2). Es wurden nur Neurone tieferer kortikaler Schichten (der Laminae 4, 5A und 5B) gereizt, wobei sowohl exzitatorische als auch inhibitorische Neurone untersucht wurden. Inhibitorische Neurone unterschieden sich dabei von exzitatorischen Neuronen durch die Aktionspotenzialform und die maximale Feuerfrequenz (wobei inhibitorische Interneurone meist kürzere Aktionspotenziale haben und mit höherer Frequenz feuern können).

In einer Versuchsreihe wurde nun entweder mit juxtazellulärer Stimulation, Mikrostimulation oder in Blindkontrollen (ohne oder mit unterschiedlicher Strominjektion, sog. ‘catch trial’) gereizt, deren Abfolge zufällig variierte. Das Auftreten einer Verhaltensantwort (dem Lecken) nach Stimulation der Ratte wurde dabei gemessen. Ein derartiges Experiment ist in Abbildung 2 gezeigt. Es zeigte sich, dass nicht nur durch Mikrostimulation bei der Ratte eine Verhaltensantwort ausgelöst werden konnte (in 75% der Fälle), sondern dass auch bei juxtazellulärer Einzelzellstimulation die Tiere häufiger antworteten als bei den Blindversuchen. Dieser Effekt war innerhalb eines Experiments zwar klein, erwies sich jedoch bei Berücksichtigung aller Experimente als statistisch signifikant. In Blindversuchen ohne Stimulation zeigten die Ratten in 18% der Fälle ein Lecken; bei juxtazellulärer Stimulation wurde diese Verhaltensantwort jedoch in 22% beobachtet. Dies bedeutet, dass zumindest in einigen Fällen die Stimulation von einzelnen Neuronen das Verhalten des Tieres beeinflussen kann.

Bei den Experimenten von Houweling und Brecht zeigte sich, dass die Einzelzellstimulation von putativ exzitatorischen und inhibitorischen Interneuronen unterschiedliche Folgen für das antrainierte Verhalten hat. Bemerkenswert war, dass zumindest in einigen Fällen die Stimulation von putativen Interneuronen zu besonders häufigen Verhaltensantworten führte. Dies bedeutet, dass die Stimulation von inhibitorischen und exzitatorischen Neuronen unterschiedliche Folgen für die Wahrnehmung von Sinnesreizen oder das Verhalten hat. Auch scheint die Unterdrückung von Aktionspotenzialen bei sensorischen Antworten eine Rolle zu spielen. Es wäre interessant zu untersuchen, inwieweit dieser Effekt auf einem spezifischen Interneuronentyp beruht und welche Bedingungen für eine derart starke Antwort erfüllt sein müssen.

In der gleichen Ausgabe von *Nature* veröffentlichten auch Huber et al. eine

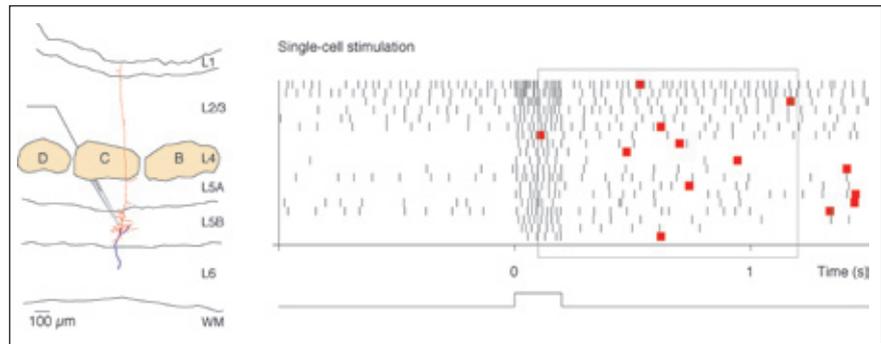
Studie, in der transgene Mäuse auf die korrekte Detektion der Stimulation von Lamina -2/3 - Pyramidenzellen des Barrel-Kortex trainiert wurden. Diese Neurone exprimierten selektiv einen lichtgesteuerten Algen-Ionenkanal, das Channelrhodopsin 2 (ChR2), was eine Photostimulation von Aktionspotenzialen ermöglichte. Die Autoren fanden, dass die Aktivierung von je fünf Aktionspotenzialen in 60 Pyramidenzellen ausreichend war, um das erlernte Antwortverhalten verlässlich auszulösen. Wenn nur ein Aktionspotenzial je Neuron ausgelöst wurde, war dazu die Aktivierung von 300 Neuronen erforderlich. Beide Studien zeigen deutlich, dass schon eine geringfügige Aktivität weniger und sogar einzelner Neurone das Verhalten beeinflussen kann. Dies spricht dafür, dass die gesamte neuronale Aktivität im Neokortex vergleichsweise niedrig ist, da sonst die geringe Aktivitätszunahme nach Einzelzellstimulation in der Gesamtaktivität untergehen würde. Sensorische Signale können daher schon durch wenige Neurone wahrgenommen werden; man spricht in diesem Zusammenhang von einem 'sparse sensory coding'. So könnte es sein, dass nur ganz bestimmte Reize eine kleinere Neuronengruppe aktiviert. Die sensorische Informationsverarbeitung wäre dann abhängig davon, welche Neuronengruppe aktiv ist. Für zukünftige Studien wäre es interessant zu untersuchen, wie unterschiedliche Neuronentypen in den verschiedenen kortikalen Schichten auf Stimulation reagieren und welchen Effekt mehr oder weniger starke Stimuli haben. Es wäre sicherlich auch aufschlussreich zu verfolgen, wie sich die Aktivität nachgeschalteter Neurone mit der Einzelzellstimulation verändert, z.B. durch eine Kombination von selektiver Stimulation und Aktivitätsmessung in anderen Neuronen (z.B. durch *in vivo* Ca<sup>2+</sup>-Imaging von Neuronenpopulationen).

## Literatur

- Brecht, M., Schneider, M., Sakmann, B. und Margrie, T.W. (2004): Whisker movements evoked by stimulation of single pyramidal cells in rat motor cortex. *Nature* 427: 704-710.
- Huber, D., Petreanu, L., Ghitani, N., Ranade, S., Hromádka, T., Mainen, Z. und Svoboda, K. (2008): Sparse optical microstimulation in barrel cortex drives learned behaviour in freely moving mice. *Nature* 451: 61-64.

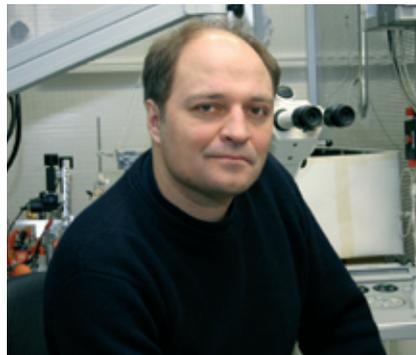
## Kurzbiografien

**Prof. Dr. Michael Brecht:** 1988-1994: Studium der Biochemie (Vordiplom) und Biologie (Diplom) an der Universität



**Abb. 2:** Antwortverhalten nach Reizung einer einzelnen Lamina-5B-Pyramidenzelle. Rekonstruktion des stimulierten Neurons (Dendriten, rot; Axon, blau) zusammen mit einer Zeichnung der Glaspipette und der Wolframmikroelektrode. Die Barrels in Lamina 4 sind hellbraun eingezeichnet. Aktionspotenziale (schwarze Striche in der Rasterdarstellung) und Leckverhalten (rote Quadrate) während der Einzelstimulation.

Tübingen. In der Diplomarbeit an der University of California San Francisco bei Prof. Preilowski und Prof. Michael Merzenich Untersuchung vibrissengesteuerter Verhaltensweisen bei Ratten. 1995-1998 Promotion am Max-Planck-Institut für Hirnforschung bei Prof. Wolf Singer über die Rolle der Synchronisation neuronaler Aktivität im Mittelhirn für die Steuerung von Augenbewegungen. 1999-2004 Arbeitsgruppe bei Prof. Bert Sakmann, Untersuchung des Barrel-Kortex mit *in vivo* Ganz-Zell-Ableitungen. 2004 Assistenzprofessur an der Erasmus-Universität Rotterdam. Seit 2006 Professor für Tierphysiologie und



**Michael Brecht**

systemische Neurobiologie am Bernstein Center for Computational Neuroscience, Humboldt-Universität zu Berlin. Die Arbeitsgruppe forscht an (1) der Bedeutung der Aktivität einzelner Neurone im ZNS, (2) zellulären Mechanismen komplexer Verhaltensweisen im somatosensorischen System, (3) neuen Techniken für die systemische Neurobiologie.

**Dr. Arthur Houweling:** 1990-1994 Studium der Biologie an der Universität



**Arthur Houweling**

Leiden. 1996-2002 Doktorarbeit in den Neurowissenschaften an der University of California, San Diego und dem Salk Institute for Biological Studies bei Prof. Dr. Terrence Sejnowski. Promotion über Computermodelle von kortikalen Netzwerken mit dynamischen Synapsen. 2004-2006 Postdoktorand am Erasmus Medical Center Rotterdam und seit 2007 am Bernstein Center for Computational Neuroscience der Humboldt-Universität zu Berlin bei Prof. Dr. Michael Brecht.

## Korrespondenzadresse

**Prof. Dr. Michael Brecht**  
Humboldt-Universität zu Berlin  
Bernstein Center for Computational Neuroscience  
Philippstr. 13 Haus 6  
10115 Berlin  
Tel.: +49 (0) 30 2093 6772  
Fax: +49 (0) 30 2093 6771  
E-Mail: michael.brecht@bccn-berlin.de

# Spektrum Sachbücher

Bildungsfutter und Lesespaß in einem!

Spektrum  
AKADEMISCHER VERLAG

Sachbuch

## ► Makro- und Naturfotografie – das Einsteigerbuch!



Neu!

1. Aufl. 2008, 280 S.,  
531 Abb., kart.  
€ (D) 24,95 /  
€ (A) 25,65 / sFr 41,-  
ISBN 978-3-8274-1906-4

Georg Glaeser

### Praxis der digitalen Makro- und Naturfotografie

In diesem praxisorientierten Leitfaden wird dem Leser erklärt, wie man die kleinen Dinge ganz groß darstellt, ob nun mit professioneller digitaler Makro-Fotoausrüstung oder aber mit einfachen Kompaktkameras. Besonderes Augenmerk wird den kleinen und kleinsten Tieren gewidmet: Man kann eine Wespe langweilig von oben oder viel spannender unmittelbar von vorn in Abwehrstellung oder beim Abflug fotografieren! Welche Tricks gibt es, möglichst nahe ranzukommen, in der richtigen Zehntelsekunde abzudrücken und genau die richtige Dosis an Schärfe bzw. Unschärfe zu erwischen?

Zwei von elf Kapiteln sind der Unterwasserfotografie gewidmet, wo ebenso kurzweilig von den besonderen Bedingungen unter Wasser die Rede ist. Abgerundet wird das Werk von Hunderten ausgezeichneten Fotografien, deren Entstehungsgeschichte als Richtlinie dienen kann.

## ► Was wird aus unserer Erde?



Neu!

1. Aufl. 2008, 300 S.,  
100 Abb., geb.  
€ (D) 24,95 /  
€ (A) 25,65 / sFr 41,-  
ISBN 978-3-8274-1991-0

Andreas Sentker / Frank Wigger (Hrsg.)

### Planet Erde – Umwelt, Klima, Mensch

Klimawandel, Artensterben, Naturkatastrophen ... In diesem Band der ZEIT WISSEN Edition widmen sich hochkarätige Wissenschaftler den zahlreichen Krisenherden unserer Erde. Den Beiträgen der Wissenschaftler wurden Reportagen, Analysen und Interviews namhafter Autoren von ZEIT und ZEIT WISSEN zur Seite gestellt. Sie ordnen die wissenschaftlichen Positionen in das Gesamtbild ein, zeigen gesellschaftliche Zusammenhänge auf, lassen Widersprüche und Dispute sichtbar werden. So wird Wissenschaft lebensnah, lebendig und erlebbar.

## ► Wer ist „Ich“? – Wissen Sie es?



1. Aufl. 2007, 304 S.,  
100 Abb., geb.  
€ (D) 24,95 /  
€ (A) 25,65 / sFr 41,-  
ISBN 978-3-8274-1946-0

Andreas Sentker / Frank Wigger (Hrsg.)

### Rätsel ich

Wer ist Ich? Wie frei ist unser Wille? Haben auch Affen ein Bewusstsein? Und Ameisen? ... *Rätsel Ich* ist ein einzigartiges Buch mit einem einzigartigen Ansatz. Es vereint prominente Autoren der unterschiedlichsten Fachrichtungen, macht zentrale Positionen der Wissenschaft verständlich und eröffnet die wichtigsten Perspektiven auf dieses aufregende Thema. Bewusst wenden die Autoren sich an ein breites Publikum, an Menschen, die über ihr „Ich“ nachdenken und sich von der Faszination der modernen Hirnforschung anstecken lassen wollen.



Neu!

## ► Spektakulärer Bildband mit unglaublichen Aufnahmen von Mars

1. Aufl. 2007, 196 S.,  
160 Abb., geb. m. SU  
€ (D) 49,95 / € (A) 51,35 / sFr 81,50  
ISBN 978-3-8274-1969-9

Jim Bell

### Postkarten vom Mars

Der Mars – eine fremde Welt, viele Millionen Kilometer von uns entfernt. Aber die Raumsonden *Spirit* und *Opportunity* haben den Roten Planeten erreicht und unglaubliche Bilder von dessen Oberfläche zur Erde zurückgesandt. Dieses Buch präsentiert die eindrucksvollsten Aufnahmen und begleitet sie mit den spannenden Erläuterungen von Jim Bell, dem leitenden Fotografen der Mission. **Speziell für die deutsche Ausgabe hat Jim Bell 5 spektakuläre neue Aufnahmen vom Mars aus den letzten Monaten (bis August 2007!) hinzugefügt.**



Neu!

## ► Auf dem Weg zur kollektiven künstlichen Intelligenz im Web?

1. Aufl. 2008, 168 S., 220 Abb., kart.  
€ (D) 24,95 / € (A) 25,65 / sFr 41,-  
ISBN 978-3-8274-1943-9

Tobias Gremmler

### cyberBionic – Design und Evolution digitaler Welten

Selbstorganisierende Prozesse in virtuellen Netzwerken weisen große Parallelen zu elementaren Verhaltensweisen biologischer Systeme auf. Das Buch beleuchtet digitale Netzwerke, kollektiven Informationsaustausch sowie künstliche Intelligenz und künstliches Leben in einem biologischen Kontext und vergleicht informationsverarbeitende Strukturen und Organisationsformen in biologischen und digitalen Systemen. Über 150 suggestive Abbildungen vermitteln einen visuellen Einstieg in die Funktionsweisen und Zusammenhänge dieser dynamischen Systeme.

## Bequem bestellen:

► direkt bei [www.spektrum-verlag.de](http://www.spektrum-verlag.de)  
► per E-Mail: [SDC-bookorder@springer.com](mailto:SDC-bookorder@springer.com)

► telefonisch: + 49 6221 345-0  
► per Fax: + 49 6221 345-4229

► per Post: Springer Verlag Heidelberg  
Kundenservice Bücher • Haberstrasse 7 • D- 69126 Heidelberg

Alle Preise zzgl. Versandkosten (D: € 3,50 / A: € 3,90 / CH: SFR 6,20, jeweils pro Lieferung). Sämtliche Preise inkl. Mehrwertsteuer. Preise unter Vorbehalt. Der € (A)-Preis ist uns vom dortigen Importeur als Mindestpreis genannt worden. Der sFr-Preis ist eine unverbindliche Preisempfehlung.

Spektrum  
AKADEMISCHER VERLAG

## Sabine Grüsser-Sinopoli (1964 – 2008)

*Verrà la morte e avrà i tuoi occhi-questa morte che ci accompagna dal mattino alla sera...*

*Der Tod wird kommen und er wird deine Augen haben, dieser Tod, der uns begleitet von morgens bis abends...*

*Cesare Pavese*

Am 3. Januar 2008 starb völlig unerwartet Professor Dr. rer. nat. Sabine Grüsser-Sinopoli im Alter von 43 Jahren. Sabine Grüsser war eine international anerkannte Neurowissenschaftlerin, die sich insbesondere mit der Psychobiologie der Abhängigkeit und nicht stoffgebundenen Süchten befasste und galt als eine der wichtigsten Suchtforscherinnen Deutschlands.

Sabine Grüsser wurde am 29.12.1964 als Tochter der berühmten Neurophysiologen Otto-Joachim Grüsser und Ursula Grüsser-Cornehls in Berlin geboren. Sie studierte Ethnologie, Psychologie, Ur- und Frühgeschichte und Humanmedizin an der Freien Universität Berlin und schloss 1993 ihr Studium mit dem Magister Artium in Ethnologie, Psychologie und Ur- und Frühgeschichte ab. Von 1993 bis 1994 war sie wissenschaftliche Mitarbeiterin am Institute for the Study of Drug Dependence in London und arbeitete für die AG Solidarische Welt und die Deutsche Stiftung für internationale Entwicklung. Ab 1994 war sie zunächst wissenschaftliche Mitarbeiterin und ab 1998 dann Hochschulassistentin am Lehrstuhl für Klinische Psychologie und der Forschungsgruppe Verhaltensneurowissenschaften an der Humboldt-Universität, wo sie 1997 zum Dr. rer. nat. mit dem Thema „Zusammenhang von perzeptuellen Phänomenen und kortikaler Reorganisation bei unilateraler Armamputation“ promovierte. Sabine kam kurz nachdem ich den Lehrstuhl übernommen hatte an das Institut und stürzte sich mit Eifer in den Aufbau ihrer Forschung und beeindruckte uns alle mit ihrer Kreativität, ihrem Tatendrang und ihrer positiven Ausstrahlung. Sie übernahm schnell Führungsaufgaben und half entscheidend beim Aufbau des Lehrstuhls mit, koordinierte die DFG-Forscherguppe „Kortikale Plastizität“ und organisierte die international bekannten „Berlin Workshops on Cortical Plasticity“. 2000 gründete sie die Interdisziplinäre Suchtforschungsgruppe Berlin und übernahm deren Leitung.



2003 wechselte sie als Hochschulassistentin zu Hans Peter Rosemeier an das Institut für Medizinische Psychologie, Zentrum für Human- und Gesundheitswissenschaften der Berliner Hochschulmedizin, Charité – Universitätsmedizin Berlin und fungierte dort auch als seine Stellvertreterin. Im Jahr 2006 habilitierte sie sich mit dem Thema „Lerntheoretische Erklärungsansätze zur Entstehung und Aufrechterhaltung von abhängigem Verhalten: Empirische Erhebungen“ an der Charité. Sie hatte zum 1. Oktober 2007 die Professur für Medizinische Psychologie und Medizinische Soziologie an der Klinik für Psychosomatische Medizin und Psychotherapie der Johannes-Gutenberg-Universitätsklinik in Mainz übernommen und gerade begonnen, mit großem Engagement und Enthusiasmus Forschung und Lehre aufzubauen und einen Schwerpunkt zu Verhaltenssüchten einzurichten.

Die Forschungen von Sabine Grüsser umfassten ein breites Spektrum, das von Fragen der neuronalen Grundlagen von Phantomphänomenen bis zur Psychobiologie des emotionalen Lernens reichte. Der Schwerpunkt ihrer Forschungen lag jedoch auf der Psychobiologie der Abhängigkeit (Alkohol-, Cannabis- und Opiatabhängigkeit, pathologisches Glücksspiel). So zeigte sie, dass sich bei Abhängigen auch nach dem Entzug und trotz verbaler Angaben, die abhängig machende Substanz unan-

genehm zu finden, in der nicht bewusst beeinflussbaren physiologischen Reaktion (z.B. dem Schreckreflex, dem langsamen kortikalen Potenzial im EEG oder der mittels funktioneller Magnetresonanztomografie abgebildeten Aktivierung im ventralen Striatum auf drogenrelevante Reize hin) eine anhaltende appetitive Reaktion zeigt. Je positiver die Droge verarbeitet wurde, desto wahrscheinlicher war auch der Rückfall. Ein besonders wichtiges Ergebnis ihrer Forschungen war der Nachweis, dass auch bei stoffungebundenen Süchten wie Internetsucht oder pathologischem Glücksspiel neurobiologische Prozesse ablaufen, die denen der stoffgebundenen Süchte sehr ähnlich sind. Sie entwickelte auch eine Reihe von Interview- und Fragebogenverfahren zur Erfassung von Abhängigkeit und eine große Materialsammlung von drogenrelevanten Reizen in mehreren Modalitäten. Sie wurde schnell zu einer international führenden Expertin insbesondere im Bereich nicht stoffgebundener Süchte und publizierte umfangreich in hochrangigen internationalen Zeitschriften und mehreren Monografien und warb beträchtliche Drittmittel ein.

Sabine Grüsser war auch ausgebildete Suchttherapeutin und interessierte sich sehr für die Prävention und Therapie der Abhängigkeit. So entwickelte sie unter anderem ein Präventions- und Interventionsprogramm zum pathologischen Glücksspiel, das in mehreren Bundesländern und in Österreich verwendet wird. Sie war auch sehr engagiert in der Politikberatung und setzte sich insbesondere für eine wissenschaftlich fundierte effektive Drogenpolitik ein.

Sabine Grüsser war eine mitreißende und begeisterte Lehrerin, die ihre Studenten inspirierte und motivierte und sich rührend um ihre Doktoranden kümmerte. Von ihren Kollegen wurde sie hoch geachtet und geschätzt. Viele von uns werden Sabine Grüsser überdies als besonders warmherzige und liebevolle Freundin in Erinnerung behalten.

Unser großes Mitgefühl gilt ihrer Familie, insbesondere ihrem Mann Giuseppe Sinopoli und ihrem kleinen Sohn Paolo.

**Prof. Dr. Herta Flor**

Zentralinstitut für Seelische Gesundheit  
Institut für Neuropsychologie und Klinische Psychologie

Ruprecht-Karls-Universität Heidelberg, J5  
68159 Mannheim

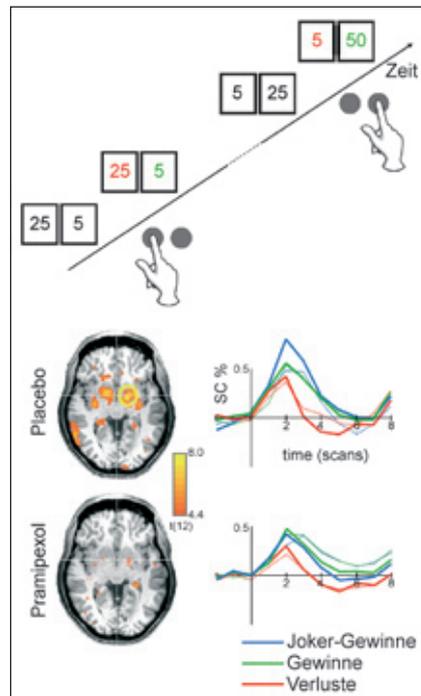
## SFB 779: Neurobiologie motivierten Verhaltens

Seit dem Beginn des Jahres 2008 fördert die DFG den neuen Sonderforschungsbereich 779 *Neurobiologie motivierten Verhaltens*, der gemeinsam von der Otto-von-Guericke-Universität Magdeburg und dem Leibniz-Institut für Neurobiologie getragen wird. Der neue Sonderforschungsbereich kann auf die umfangreiche neurowissenschaftliche Infrastruktur in Magdeburg zurückgreifen, die im fakultätsübergreifenden Forschungszentrum *Center for Behavioral Brain Sciences (CBBS)* gebündelt wird und die im Humanbereich unter anderem eine Reihe von Forschungs-scannern (7 Tesla, 2 x 3 Tesla, 1,5 Tesla) sowie ein Ganzkopf-MEG umfasst. Er kann an die erfolgreiche Arbeit des SFB 426 *Limische Strukturen und Funktionen* anknüpfen, der über zwölf Jahre die neurowissenschaftliche Forschung in Magdeburg geprägt hat.

Verhalten wird in hohem Maße motiviert durch appetitive (belohnende) und aversive (bestrafende) Reize. Das Ziel der SFB-Initiative ist es, (i) die neuronale Dynamik der verstärkerevaluierenden Hirnsysteme, (ii) ihre Interaktion mit anderen Funktionen wie Perzeption, Aufmerksamkeit, Lernen und Gedächtnis, (iii) ihre pathologische Veränderung bei verschiedenen neuropsychiatrischen Erkrankungen sowie (iv) die beteiligten zellphysiologischen Prozesse und molekularen Mechanismen zu verstehen. Zum Erreichen dieses Ziels werden die komplementären Möglichkeiten human- und tierexperimenteller Forschung unter Einsatz einer breiten Palette von modernen Technologien genutzt.

Die Frage nach den neuronalen Grundlagen des menschlichen Verhaltens impliziert zwei zentrale Aspekte: *Wie* werden Ziele umgesetzt in Wahrnehmen, Denken, Fühlen und Handeln, und *warum* werden bestimmte Ziele überhaupt verfolgt? Der letztere Aspekt, der eng mit den Begriffen Motivation, Lernen, Belohnung und Bestrafung zusammenhängt, soll im Rahmen des geplanten SFB auf hirnfunktioneller Ebene untersucht werden. Zu verstehen, wie Verhalten motiviert und wie limbische Hirnregionen Verhalten steuern und modulieren, erscheint für den Fortschritt der Neurowissenschaften wesentlich. Zahlreiche experimentelle Befunde belegen, dass das mesencephale Dopaminsystem in Bezug auf seine Zielstrukturen (Ncl. accumbens, Striatum, frontaler Kortex) ein Feuerverhalten zeigt, welches nahe legt, dass über phasische Zunahme des Dopamin-Outputs „Belohnung“ codiert wird und dass „Bestrafung“ zu einer phasischen Abnahme von Dopamin führt. Ferner codieren dopami-

nerge Neurone auch das Abweichen von einer erwarteten Belohnung (reward prediction error). Neuere Untersuchungen mit funktioneller Magnetresonanztomographie (fMRT) beim Menschen bestätigen die tierexperimentellen Beobachtungen hinsichtlich der zentralen



**Beispiel für eine Pilotuntersuchung im humanexperimentellen Bereich des SFB: Es ist bekannt, dass bei Patienten mit Parkinsonerkrankung unter der Behandlung mit Dopaminagonisten vermehrt Impulskontrollstörungen auftreten, die sich häufig als pathologisches Spielen äußern. In einer placebo-kontrollierten doppelblinden Studie wurde die Wirkung einer einmaligen Gabe des D2/D3 - Agonisten Pramipexol (Sifrol®) auf Verhalten und Hirnaktivierungen in einer Spielaufgabe untersucht. Das Paradigma beinhaltete die Wahl einer von zwei Zahlen. Es konnte die entsprechende Summe (25 c, 5 c) gewonnen oder verloren werden. Bei Gewinnen zeigte sich eine deutliche Aktivierung des Nucleus accumbens. Diese fand sich bei seltenen „Joker-Gewinnen“ verstärkt (50 c anstelle von 25 c). Unter Pramipexol war die belohnungsbezogene Antwort im Ncl. accumbens deutlich reduziert. Es wird daher die Hypothese weiterverfolgt, dass die reduzierte Antwort im Belohnungssystem die Grundlage der Impulskontrollstörungen unter Behandlung mit entsprechenden Substanzen darstellt.**



Rolle dopaminerger Strukturen. Trotz einer regen internationalen Forschungstätigkeit sind zahlreiche Fragen in Bezug auf die Rolle von appetitiven und aversiven Reizen in der Motivation von Verhalten einerseits und die Rolle des dopaminergen Systems bei der Vermittlung von Belohnung und Bestrafung andererseits offen. Zu ihrer Beantwortung ist ein interdisziplinäres Vorgehen, welches humanexperimentelle, tierphysiologische und molekular-biologische Ansätze kombiniert, erforderlich. Einige der Forschungsfragen, die im SFB bearbeitet werden sollen, werden im Folgenden kurz dargestellt. In der Vergangenheit wurden in den Neurowissenschaften appetitiv motivierte („Lernen durch Belohnung“) und aversiv motivierte Lernprozesse („Lernen durch Bestrafung“) getrennt betrachtet. Die Erforschung der neuronalen Grundlagen des appetitiv motivierten Lernens fokussierte im Wesentlichen auf die Untersuchung des dopaminergen Systems und die Anwendung mikroökonomischer Lerntheorien. Die konzeptionelle Grundlage der Erforschung aversiv motivierten Lernens stellt hingegen hauptsächlich das Paradigma der Furchtkonditionierung dar, wobei gezeigt werden konnte, dass das erfolgreiche Erlernen einer Vermeidungsstrategie mit einer präfrontalen Dopaminausschüttung einhergeht und somit das Entgehen einer Bestrafung offensichtlich wie eine Belohnung codiert wird. Die Integration appetitiver und aversiver Motivationsaspekte, wie sie in vielen natürlichen Lernsituationen auftritt, ist hierbei unberücksichtigt geblieben. Über die fundamentale Rolle dieser Integration („learning by carrot and by stick“) existieren nur erste Befunde. Aus diesem Grunde wollen sich die Forscher der SFB-Initiative noch einmal intensiv mit dem Einfluss aversiver und appetitiver Reize (separat und in Kombination) auf das Lernverhalten und dessen neuronale Korrelate beim Mensch und beim Tier beschäftigen, wobei zum Teil identische Paradigmen zur Anwendung kommen. Im Humanbereich werden neben den typischen Untersuchungsmethoden der kognitiven Neurowissenschaft (fMRI, MEG, ERP) auch invasive elektrophysiologische Messungen durchgeführt. Diese werden an der neu geschaffenen Abteilung für Stereotaktische Neurochirurgie der Medizinischen Fakultät möglich, wobei als Zielstrukturen neben den Nucleus subthalamicus (M. Parkinson) auch

der Nucleus accumbens (Depression, Sucht, Zwangserkrankungen) und der VIM Kern des Thalamus (Tremor) fokussiert werden. Hierdurch können motivationsrelevante Strukturen direkt im sich verhaltenden Menschen untersucht werden. Für ausgewählte Fragestellungen kommt der in Magdeburg vorhandene 7T MRI - Scanner zur Anwendung und für die Analyse werden Mustererkennungsverfahren herangezogen.

Im tiereperimentellen Bereich steht ein kortexabhängiges Lernmodell am Gerbil im Mittelpunkt, bei dem das Lernen durch appetitive (Elektrostimulation der VTA) und aversive (schmerzhafter Fußschock) Reize vermittelt wird. Darüber hinaus werden motivationsvermittelte Lernvorgänge beim Makaken untersucht, Des Weiteren sollen die molekulare Regulation und Modulation während appetitiv und aversiv motiviertem Lernen untersucht werden. Hierzu werden in verschiedenen Teilprojekten lernabhängige Veränderungen in bereits bekannten Signalwegen untersucht (u.a. Bassoon, Piccolo, Jacob). Um einen umfassenden Überblick über die beteiligten Signalwege bei der Verarbeitung von aversiver und appetitiver Information beim Lernen zu erhalten, ist jedoch eine ergänzende Forschungsstrategie gefragt. Diese realisiert der SFB im Rahmen des sog. **Integrativen**

**Paradigma.** Im Rahmen dieses Projektes ist vorgesehen, das am Gerbil bereits etablierte kortexabhängige Lernparadigma mit aversiver bzw. appetitiver Rückmeldung auf die Maus zu übertragen. Es wird sodann von unter verschiedenen Bedingungen (aversiv, appetitiv, kombiniert) trainierten Tieren aus einer Reihe von Hirnregionen Gewebe gewonnen und einer Proteomanalyse unterzogen. Hierzu hat der SFB ein zentrales Serviceprojekt geschaffen, in dem die Expertise zur Proteomanalyse vorgehalten wird. Die durch die Proteomanalyse identifizierten potenziell relevanten Moleküle und Signalwege sollen in den molekularbiologischen Projekten des SFB dann näheren Analysen unterzogen werden. Eine direkte Untersuchung der so identifizierten Proteine beim Menschen ist nicht möglich. Um dennoch den möglichen Einfluss solcher Proteine auch auf komplexe motivationsabhängige Informationsverarbeitungsprozesse beim Menschen studieren zu können, werden die Effekte von funktionalen Polymorphismen auf Verhalten und Hirnaktivierungen untersucht werden. Daneben werden auch Polymorphismen von Genen, die die Aktivität in neuromodulatorischen Transmittersystemen bestimmen, bearbeitet. Die Gedächtnisbildung im Hippokampus und im rhinalen Kortex wird von solchen neuromodulatorischen Transmittersystemen beeinflusst.

Tiereperimentelle Studien deuten neuerdings darauf hin, dass die neuromodulatorische Verbesserung der Plastizität in diesen Strukturen kontextabhängig und zeitlich verzögert auftritt. So führt die Exploration einer neuen Umgebung zu einer dopaminvermittelten Verstärkung und Verlängerung der Langzeitpotenzierung (LTP) im Hippokampus. Es wird im SFB einerseits am Menschen der zeitversetzte kontextuelle Zusammenhang zwischen dopaminergem Neuromodulation und Lernen beim Menschen mit Hilfe funktioneller Kernspintomographie und Pharmakologie fokussiert, andererseits wird im Tierexperiment untersucht, welche Rolle den modulatorischen Hirnstrukturen für die Synthese, Aktivierung, Deaktivierung oder Regulation von Schlüssel-molekülen, die mit LTP- bzw. LTD in Verbindung stehen, spielen. Außerdem soll geklärt werden, welche Rolle diese Strukturen und Moleküle für negativ (Stress) oder positiv motivierte (Belohnung) verhaltensbedingte Verstärkungsprozesse der LTP und LTD spielen, d.h. wie eine Umschreibung von transienter in Langzeit-LTP/LTD erfolgt.

Beim Bestrafungslernen fokussierte die Forschung auf das Paradigma der Furchtkonditionierung. Hier sind die Verschaltungen der Amygdala als zentraler Struktur mit kortikalen und subkortikalen Eingangs- und

## Synaptische Plastizität

### Junior-Forschergruppe

#### Förderprogramm 2008 der Bauer-Stiftung im Stifterverband für die Deutsche Wissenschaft

Synapsen sind die zentralen plastischen Strukturen des Gehirns. Ihre morphologischen und funktionellen Änderungen gelten als Schlüsselmechanismen für Lernprozesse und die Speicherung von Informationen.

Die Bauer-Stiftung vergibt Mittel an eine Junior-Forschergruppe, die auf dem Gebiet „Synaptische Plastizität“ arbeitet.

Im Hinblick auf die Bedeutung der Förderung des wissenschaftlichen Nachwuchses auf dem Gebiet der Neurowissenschaften richtet sich das Angebot als Zusatzförderung an bereits bestehende oder zu etablierende Junior-Forschergruppen.

In der Junior-Forschergruppe sollen besonders qualifizierte Postdoktoranden/innen und Doktoranden/innen auf hohem wissenschaftlichem Niveau gemeinsam ein aktuelles Forschungsprogramm bearbeiten. Damit soll die frühe wissenschaftliche Selbständigkeit der Nachwuchswissenschaftler/innen unterstützt werden.

Über einen Zeitraum von drei Jahren werden der Junior-Forschergruppe Mittel in Höhe von 50.000 Euro jährlich für die Finanzierung von Postdoktoranden/innen und/oder Doktoranden/innen sowie Reise- und Sachmittel zur Verfügung gestellt. Eine Verlängerung um weitere zwei Jahre ist bei positiver Begutachtung möglich.

Die Junior-Forschergruppe muss an einem ausgewiesenen Universitätsinstitut oder außeruniversitären Institut eingerichtet werden, das eine Integration in ein aktives Forschungsumfeld garantiert.

Die Beantragung erfolgt gemeinsam mit dem/der verantwortlichen Hochschullehrer/in.

Bitte legen Sie dem Antrag folgende Unterlagen in vierfacher Ausfertigung bei:

Beschreibung des Forschungsprogramms, Kurzdarstellung der an der Gruppe beteiligten Wissenschaftler/innen mit wissenschaftlichem Werdegang, Publikationsliste, Beschreibung des wissenschaftlichen Umfelds der Junior-Forschergruppe, Erklärung des/der verantwortlichen Hochschullehrers/in, Zeit- und Kostenplan

Über die Vergabe der Förderung entscheidet die Stiftung auf der Grundlage von Fachgutachten.

Bitte richten Sie Ihre Bewerbung bis zum **30. April 2008** an die **Bauer-Stiftung im Stifterverband für die Deutsche Wissenschaft**  
Dr. Marilen Macher  
Barkhovenallee 1  
45239 Essen  
Telefon (0201)8401-171, Telefax (0201)8401-255

## Hirnforschung/ Zelluläre Neurobiologie

#### Förderprogramm 2008 der Schram-Stiftung im Stifterverband für die Deutsche Wissenschaft

Die Schram-Stiftung vergibt Mittel für Forschungsprojekte auf dem Gebiet der Hirnforschung.

Es sollen bis zu drei Vorhaben auf dem Gebiet der Zellulären Neurobiologie gefördert werden. Von besonderem Interesse sind Projekte, die sich mit der Regulation intrazellulärer Transportvorgänge in Nervenzellen oder mit neuronalen Genexpressionsmechanismen befassen.

Auch Vorhaben zur Analyse kleiner neuronaler Netzwerke werden berücksichtigt.

Über einen Zeitraum von drei Jahren können Mittel i.H.v. bis zu 120.000 Euro p.a. für Personal, wissenschaftliche Geräte, Verbrauchsmaterial, Reisen und andere Erfordernisse des Vorhabens zur Verfügung gestellt werden.

Der Bewerbung sind beizufügen:

- Lebenslauf des Antragstellers
- Stand der Forschung
- Eigene Vorarbeiten,
- Beschreibung des Forschungsvorhabens, Ziele und Arbeitsprogramm
- Antragszeitraum
- Kostenplan

Über die Vergabe der Förderung entscheidet die Stiftung auf der Grundlage von Fachgutachten.

Bitte richten Sie Ihre Bewerbung bis zum **30. April 2008** an die **Schram-Stiftung im Stifterverband für die Deutsche Wissenschaft**

Dr. Marilen Macher  
Barkhovenallee 1  
45239 Essen  
Telefon (0201)8401-171  
Telefax (0201)8401-255



Ausgangsstrukturen weitgehend bekannt. Da Furchtkonditionierung jedoch keine flexible Verhaltenssteuerung im Sinne von Strategien, die eine Bestrafung vermeiden, beinhaltet, sind Strukturen und Prozesse parallel zum oben skizzierten Belohnungslernen weitgehend unerforscht. Genau solche Prozesse sind aber bei der erfolgreichen Vermeidung von Bestrafung theoretisch zu fordern. Tatsächlich kontrollieren zahlreiche modulatorische Systeme die neuronale Aktivität von Amygdala und Hippokampus, sowie ihren Beitrag zur Furchtkonditionierung. Eine Vielzahl von Studien belegt zudem die Bedeutung serotonerger Transmission und verschiedener Serotoninrezeptoren, insbesondere für die kontextuelle Konditionierung, während noradrenerge und dopaminerge Mechanismen sowohl auf kontextuelles als auch stimulus-spezifisches Furchtgedächtnis verstärkend wirken. Über die

se klassischen Neuromodulatoren hinaus sind eine Vielzahl von Neuropeptiden in Amygdala und Hippokampus präsent, die vermutlich wesentlich zur Furchtkonditionierung beitragen. Es wird daher die Rolle neuromodulatorischer (u.a. cholinerg, dopaminerg) Afferenzen zum amygdalo-hippokampalen System, aber auch die Expression und Wirkung lokal neuromodulatorisch wirkender Neuropeptide untersucht. Die Zeitskala der Lernprozesse, die üblicherweise in neurobiologischen Experimenten untersucht werden, umfasst in der Regel nur wenige Sitzungen im adulten Tier. Voruntersuchungen zum SFB zeigen, dass im juvenilen, noch unreifen Gehirn im Verlauf eines Lerntrainings zwar nicht das erwünschte Verhalten akquiriert wird, wohl aber Teillösungen generiert werden, die bei Wiederholung der Lernaufgabe im adulten Tier abgerufen und in einen Lernkontext integriert werden können.

Dieses Lernparadigma soll im SFB weiter untersucht werden. Insbesondere wird gefragt, ob das frühe Lerntraining zu einer Bahnung dopaminergischer Afferenzen im Präfrontalkortex führen kann, die dann ein beschleunigtes Lernen im adulten Tier ermöglicht.

Mit diesem interdisziplinären Forschungsprogramm hofft der SFB in den nächsten Jahren wesentliche Beiträge zur Charakterisierung der Neurobiologie motivierten Verhaltens zu leisten.

#### Kontakt

**Prof. Dr. Thomas Münte**

*Abt. Neuropsychologie  
Universität Magdeburg  
Universitätsplatz 2, 39106 Magdeburg  
Tel./Fax: + 49 (0) 391 67 18475/11947  
E-Mail: thomas.muente@med.ovgu.de*

## Die DFG ruft zur Antragstellung im Programm „NIH/DFG Research Career Transition Award Program“ auf



Die DFG und die National Institutes of Health (NIH) rufen erneut zur Antragstellung in dem gemeinsamen Förderprogramm „NIH/DFG Research Career Transition Awards“ auf. Das Programm gibt Nachwuchswissenschaftlerinnen und -wissenschaftlern die Möglichkeit, über einen zusammenhängenden Zeitraum von fünf bis sechs Jahren Forschungsarbeiten durchzuführen; zunächst an einem der NIH-Institute in den USA und anschließend an einer deutschen Forschungseinrichtung. Das Programm wird zweimal jährlich ausgeschrieben. Anträge für die nächste Runde müssen bis 31. März 2008 bei der DFG eingegangen sein.

Die Promotion darf zum Zeitpunkt der Antragstellung nicht länger als vier Jahre zurückliegen. Die erste Förderphase besteht aus einem mindestens zweijährigen und maximal dreijährigen Aufenthalt an einem NIH-Institut. Die Finanzierung dieser Phase wird von den NIH-Instituten getragen und ist mit dem gastgebenden Mentor am ausgewählten Institut selbstständig anzubahnen. In dieser ersten Phase übernimmt die DFG die Kosten für bis zu vier Reisen nach Deutschland, um die zweite Phase vorzubereiten. Die Wahl der aufnehmenden Institution in Deutschland muss erst gegen Ende der ersten Phase getrof-

fen werden. In der zweiten Phase übernimmt die DFG die Förderung der Wissenschaftlerin oder des Wissenschaftlers durch die Finanzierung einer eigenen Stelle in Deutschland sowie Sachmittel in Höhe von 30 000 Euro für einen Zeitraum von zwei Jahren.

**Anträge sind einzureichen bei der Deutschen Forschungsgemeinschaft, z. Hd. Dr. Tobias Grimm, Fachbereich Lebenswissenschaften, Kennedyallee 40, 53175 Bonn. Tel: 0228 885-2325, E-Mail: tobias.grimm@dfg.de.**

Für die Anbahnung von Kontakten mit NIH-Instituten und zur weiteren Information über dieses Programm haben die NIH die Webseite: <http://fellowshipoffice.niddk.nih.gov/NIH-DFG/> bereit gestellt.

## DFG ruft zur Antragstellung von neuen Klinischen Forschergruppen auf

Zur Förderung der medizinischen Forschung in Deutschland ruft die Deutsche Forschungsgemeinschaft (DFG) erneut zur Antragstellung von Klinischen Forschergruppen auf. Ziel einer Klinischen Forschergruppe ist die Förderung von Forschungsverbänden in der krankheits- oder patientenorientierten (translationalen) klinischen Forschung und die dauerhafte Implementierung von wissenschaftlichen Arbeitsgruppen in klinischen Einrichtungen. In Klinischen Forschergruppen

können herausragend ausgewiesene Wissenschaftlerinnen und Wissenschaftler in ihrer mittelfristig angelegten, engen Zusammenarbeit an einer besonderen Forschungsaufgabe unterstützt werden, wenn zu erwarten ist, dass die so unterstützte Zusammenarbeit zu Ergebnissen führt, die mit den Möglichkeiten der Einzelförderung nicht erreicht werden können. Für die Antragstellung gilt ein zweistufiges Verfahren. Der DFG-Geschäftsstelle wird zunächst ein Vorantrag („Konzeptpapier“) vor-

gelegt. Nach einer vergleichenden Bewertung der Voranträge durch die DFG-Senatskommission für Klinische Forschung werden die ausgewählten Gruppen aufgefordert, einen ausgearbeiteten Antrag einzureichen. Einzelheiten zur Antragstellung finden sich im neuen Merkblatt zur Förderung von Klinischen Forschergruppen (DFG-Vordruck 1.051, Fassung von 01/08). Voranträge dürfen einen Umfang von maximal 25 Seiten, zuzüglich Lebensläufen und Publikationslisten, nicht überschreiten. Antragsteller, die eine Einrichtung einer Klinischen Forschergruppe im Jahr 2009 anstreben, reichen bitte ihren Vorantrag bis spätestens 1. Juni 2008 in 15-facher Ausfertigung bei der DFG-Geschäftsstelle ein.

**Nähere Information ist zu finden unter:**  
[www.dfg.de/forschungsfoerderung/koordinierte\\_programme/klinische\\_forschergruppen](http://www.dfg.de/forschungsfoerderung/koordinierte_programme/klinische_forschergruppen).

Außerdem hat die Senatskommission für Klinische Forschergruppen (DFG) eine Neuausrichtung dieses Förderinstruments

beschlossen, um die Effizienz und die wissenschaftliche Qualität der Klinischen Forschung in Deutschland weiter zu stärken. Dazu finden sich weitere Informationen unter: [http://www.dfg.de/aktuelles\\_presse/information\\_fuer\\_die\\_wissenschaft/andere\\_verfahren/info\\_wissenschaft\\_09\\_08.html](http://www.dfg.de/aktuelles_presse/information_fuer_die_wissenschaft/andere_verfahren/info_wissenschaft_09_08.html)

Nähere Auskünfte erteilen die für die Medizin zuständigen Fachreferentinnen und Fachreferenten der DFG-Geschäftsstelle. Ihren fachlichen Ansprechpartner finden Sie im Internet unter: [www.dfg.de/dfg\\_im\\_profil/struktur/geschaeftsstelle/abteilung\\_ii/lebenswissenschaften\\_1/index.html](http://www.dfg.de/dfg_im_profil/struktur/geschaeftsstelle/abteilung_ii/lebenswissenschaften_1/index.html).

## Gertrud-Reemtsma-Promovendenpreis

Die Gertrud-Reemtsma-Stiftung vergibt über die Max-Planck-Gesellschaft an hervorragend qualifizierte Kandidatinnen und Kandidaten den Gertrud-Reemtsma-Promovendenpreis für die Durchführung einer Promotionsarbeit auf dem Gebiet der neurologischen Grundlagenforschung. Der Preis ist mit einem Promotionsstipendium verbunden, das mit monatlich 1500 € (steuerfrei) dotiert ist und für die Dauer von bis zu 3 Jahren gewährt wird. Der Abschluss der Promotionsarbeit

mit der Benotung „summa cum laude“ wird zusätzlich mit einer Prämie von 3000 € ausgezeichnet. Wichtigstes Kriterium für die Auswahl ist neben dem Nachweis exzellenter Studienleistungen die Qualität und Originalität des vorgeschlagenen Forschungsprojektes. Preisvorschläge können von den Betreuerinnen und Betreuern der Promovenden unter Beifügung des Curriculum vitae, einer Beschreibung des Forschungsprojektes sowie Angabe der geleisteten Vorarbeiten (insge-

samt maximal 3 Seiten) eingereicht werden. Eigenbewerbungen sind ausgeschlossen. Die Vorschlagsfrist für das jeweils am 1. Januar beginnende Stipendium ist der 30. Juni des Vorjahres. Einsendungen bitte an:

**Frau Kyra Rombach**

*Sekretariat der Gertrud-Reemtsma-Stiftung  
 Max-Planck-Institut für neurologische  
 Forschung*

*Gleueler Str. 50, 50931 Köln*

*Tel.: + 49 (0) 221 4726 210 /-212*

*Fax: + 49 (0) 221 4726 349*

*E-Mail: [k.rombach@nf.mpg.de](mailto:k.rombach@nf.mpg.de)*

## Braintertainment – Expeditionen in die Welt von Geist und Gehirn

*Besprochen von Anja Hoffmann, Bayer Schering Pharma AG, Global Clinical Development, Müllerstr. 178, 13342 Berlin*

Unterhaltung für das Gehirn und über das Gehirn – wie auch immer man diesen Buchtitel übersetzen möchte: Das Buch, das sich dahinter verbirgt, ist beides. Gute Unterhaltung für das Gehirn über das Thema Gehirn – eine humorvolle und informative Betrachtung unseres spannendsten Organs in 17 Kapiteln formuliert von verschiedenen Autoren.

Die Herausgeber dieses Buches sind Wulf Bertram und Manfred Spitzer, der selber als Autor zahlreicher Bücher zu verschiedenen Themen der Neurobiologie bekannt ist.

Nun kann man sich fragen: Warum noch dieses Buch, wo es doch schon eine Fülle von populärwissenschaftlichen Büchern zum Thema Gehirn gibt? Die Antwort auf diese Frage schicken die Herausgeber im Vorwort gleich voran:

Die Entstehung dieses Buches beruhe auf zwei Prämissen:

- „1. Hirnforschung ist viel zu spannend, um sie den Neurobiologen zu überlassen.
2. Ein vergnügtes Hirn lernt besser als ein angestregtes.“

Dieses Buch versucht also, die neuesten Erkenntnisse der Lernforschung ernst zu nehmen und Wissen nicht nur auf anschau-

liche, sondern auch auf vergnügliche Weise zu vermitteln. Aus diesem Grund kommen nicht nur Neurobiologen, Neurologen und Psychiater bzw. Psychologen zu Wort, sondern auch Satiriker, Kabarettisten und Cartoonisten schildern ihre Sichtweise auf das Gehirn. Und neben den prominenten Autoren finden sich ebenfalls jüngere Wissenschaftler in der Autorenliste – alle geeint durch das Ansinnen, die neuesten Erkenntnisse aus ihren jeweiligen Fachbereichen nicht nur kenntnisreich, sondern auch mit einem Augenzwinkern zu vermitteln.

Gelingt dies auch? Die 17 Kapitel decken einen großen Themenbereich ab: Auf einen „Rundgang durch die Hirnlandschaft“, der einen kurzen anatomischen Überblick vermittelt, und einem humorigen Einblick in den Sinn und Zweck des Gehirns, der anhand eines Spazierganges durch ein tausendfach vergrößertes Gehirn vermittelt wird, folgen eine kleine Einführung in die Fachbegriffe und die Geschichte der Hirnforschung. Auf dieser Grundlage werden dann verschiedene Forschungsgebiete genauer betrachtet. Es gibt z.B. Kapitel über Spiegelneuronen, über die Erforschung des Glücksgefühls, über

Psychopharmaka und über die Zusammenhänge zwischen Neurobiologie und Psychoanalyse. Darauf folgen die heiteren Beiträge, die sich z.B. mit optischen Täuschungen, „Hirn und Grips in der Popkultur“ und der Wahrscheinlichkeit der Replizierbarkeit von Experimenten befassen. Abgeschlossen wird das Buch durch einen kabarettistischen Epilog, der die einzelnen Kapitel noch einmal Revue passieren lässt. Während also in den ersten Kapiteln der Schwerpunkt noch mehr auf der Informationsvermittlung liegt, verschiebt er sich in den letzten Kapiteln hin zur humorvollen Betrachtungsweise aus verschiedenen Blickwinkeln.

Durch die Einbeziehung so unterschiedlicher Autoren gelingt in der Tat ein guter Brückenschlag zum einen zwischen den verschiedenen Disziplinen, die sich mit der Neurobiologie befassen (z.B. zwischen Neurobiologie und Psychiatrie), und zum anderen zwischen Fachleuten und Betrachtern von außen. Die Vielzahl der Autoren bedingt dabei, dass der Stil nicht einheitlich sein kann. Hier haben die Herausgeber sicher viel dazu beigetragen, dass das Gesamtwerk einen roten Faden er- und keine Doppelungen enthält sowie in sich stimmig wirkt. Dennoch ist die Qualität der einzelnen Beiträge unterschiedlich. Während die meisten Kapitel tatsächlich eine Fülle von Informationen enthalten, die sehr anschaulich und lustig beschrieben sind, findet man in anderen Artikeln eine eher knappe und/oder trockene Darstellung, die mehr an einen wissenschaftlichen Artikel erinnert und mir wenig



## Ausblick

Folgende Beiträge werden für die nächsten Ausgaben von *Neuroforum* vorbereitet:

**Gehirn-Computer-Schnittstellen  
(Brain-Computer Interfaces):  
Anwendung und Perspektiven**  
*Andrea Kübler, Christa Neuper*

**Die Zytomatrix an der präsynaptisch  
aktiven Zone: Molekulare Organisation  
und Funktion**  
*Susanne Schoch, Tobias Mittelstaedt*

**Nikotin**  
*Carina Wessels, Georg Winterer*

**Mitochondriale Erkrankungen:  
von der schweren kindlichen  
Enzephalomyopathie bis zur  
alterassozierten Neurodegeneration**  
*Thomas Klopstock*

### Impressum

#### Herausgeber:

Neurowissenschaftliche Gesellschaft e.V.  
Bankverbindung: Berliner Bank AG,  
BLZ 100 200 00, Kto.-Nr. 810 505 1800  
<http://nwg.glia.mdc-berlin.de>

#### Redaktion:

Helmut Kettenmann (v.i.S.d.P.)  
Meino Alexandra Gibson

#### Redaktionsanschrift:

Max-Delbrück-Centrum für  
Molekulare Medizin (MDC)  
Robert-Rössle-Str. 10, 13092 Berlin  
Tel./Fax: 030 9406 3133/-3819  
E-Mail: [gibson@mdc-berlin.de](mailto:gibson@mdc-berlin.de)

#### Redaktionsgremium:

Ad Aertsen, Freiburg  
Mathias Bähr, Göttingen  
Niels Birbaumer, Tübingen  
Ulrich Dirnagl, Berlin  
Andreas Draguhn, Heidelberg  
Ulf Eysel, Bochum  
Michael Frotscher, Freiburg  
Eckart Gundelfinger, Magdeburg  
Hanns Hatt, Bochum  
Hans-Peter Hartung, Düsseldorf  
Klaus-Peter Hoffmann, Bochum  
Uwe Homberg, Marburg  
Sigismund Huck, Wien  
Sigrun Korsching, Köln  
Georg W. Kreutzberg, Heidelberg  
Wolfgang H. Oertel, Marburg  
Hans-Joachim Pflüger, Berlin  
Rainer Schwarting, Marburg  
Petra Störig, Düsseldorf  
Herbert Zimmermann, Frankfurt/M.

**Verlag:** Spektrum Akademischer Verlag  
GmbH (Spektrum Akademischer Verlag ist  
ein Unternehmen von Springer Science &  
Business Media)  
Sievogtstr. 3-5, 69126 Heidelberg  
Tel.: 06221/9126-300  
Fax: 06221/9126-370  
<http://www.spektrum-verlag.de>

#### Geschäftsführer:

Dr. Ulrich Vest

#### Anzeigen:

top-ad Bernd Beutel  
Hammelbächerstr. 30, 69469 Weinheim  
Tel./Fax: 06201/29092-0 /-20  
E-Mail: [info@top-ad-online.de](mailto:info@top-ad-online.de)

#### Satz und Layout:

polycom Media Service  
Brunnenstr. 128, 13355 Berlin  
Tel./Fax: 030/264 921-30 /-11

#### Druck und Auslieferung:

Stürtz GmbH, Würzburg

#### Abo-Service:

Springer Distribution Center GmbH  
Haberstraße 7, 69126 Heidelberg  
Tel./Fax: 06221/345 4304 /-4229  
E-Mail: [subscriptions@springer.com](mailto:subscriptions@springer.com)

#### Titelgestaltung:

Eta Friedrich, Berlin  
Erscheinungsweise viermal im Jahr.  
*Neuroforum* ist das Publikationsorgan der  
Neurowissenschaftlichen Gesellschaft.

Bezugspreise: Jahresabonnement (4 Hefte)  
Einzelperson Inland EUR 49,10, Ausland  
EUR 51,20; Firmen, Bibliotheken Inland EUR  
93,10, Ausland EUR 95,20; Studenten (bei  
Vorlage der Immatrikulationsbescheinigung  
o. ä.) Inland EUR 19,10, Ausland EUR 21,20.  
Einzelheft Inland EUR 26,20. Alle Preise inkl.  
Versandkosten (Abonnement: Inland EUR  
4,10, Ausland EUR 6,20; Einzelheft: Inland  
EUR 1,20) und MwSt. Eine Abonnement-  
Bestellung kann innerhalb von zwei Wochen  
schriftlich beim Abo-Service in Jena widerrufen  
werden. Das Abonnement gilt zunächst  
für ein Jahr und verlängert sich jeweils um ein  
weiteres Jahr, falls es nicht spätestens sechs  
Wochen vor Ablauf gekündigt wird. Bei Nicht-  
lieferung aus Gründen, die nicht vom Verlag  
zu vertreten sind, besteht kein Anspruch auf  
Nachlieferung o. Erstattung vorausbezahlter  
Bezugsgelder. Gerichtsstand, Erfüllungs- u.  
Zahlungsort ist Heidelberg.

Begeisterung vermittelt hat. Beispielsweise ließ der Beitrag zur Humorforschung meiner Meinung nach genau diesen vermissen – eben tatsächlich „Humor ernst genommen“. Über denselben lässt sich natürlich streiten, und so wird es insbesondere zu den Kapiteln im zweiten Teil unterschiedliche Meinungen geben, über welchen der Beiträge der einzelne Leser mehr oder weniger schmunzeln kann. Ich persönlich fand weder das Kapitel über den Charivari-Effekt noch den Text zum Hirndruck richtig amüsant, obwohl doch gerade das Thema „Replizierbarkeit von Experimenten“ Raum für eine Fülle von Anekdoten bietet. Ich kann mir aber vorstellen, dass ein anderer Leser diese Texte witzig findet. Wunderbar fand ich dagegen die Darstellung der Entwicklung der „Transkraniellen Mandelkern-Massage“, die das Verhalten von Ärzten und Patienten pointiert karikiert, sowie den Epilog, in dem einige herrlich prägnante Kommentare zu finden sind. Die enthaltenen Spitzer-Texte werden dem fleißigen Spitzer-Leser bekannt vorkommen, da sich ähnliche Texte in anderen Publikationen wiederfinden. Dies mag der Ähnlichkeit der Themen (und der Menge der Spitzerschen Publikationen?) geschuldet sein. Da der Großteil der Texte von anderen Autoren stammt, ist die Überlappung aber insgesamt gering. Was ich persönlich stilistisch als Unsitte empfinde, sind die zunehmenden Anglizismen. An einigen Stellen soll durch diesen Wechsel ins Englische vielleicht ein Vergleich zwischen Gehirn und Computer erreicht werden, häufig ist das „Denglisch“ meiner Meinung nach allerdings nicht notwendig. „Verlinkt“ lässt sich ebenso prägnant und einfach durch die Worte „vernetzt“ oder „verbunden“ ausdrücken und „die Power“ einer Aussage lässt sich mit „Kraft“ oder „Eindrücklichkeit“ sogar verstärken.

Von diesen Punkten, die den Inhalt in keiner Weise schmälern, aber einmal abgesehen, handelt es sich um ein sehr empfehlenswertes Buch, das Unterhaltung für viele Lesestunden und sogar eine nachhaltige Veränderung unseres Gehirns – durch neues Wissen und/oder einen veränderten Blick auf uns selbst – verspricht. Wer seinem Gehirn also Beschäftigung, Freude und Wandel schenken möchte (gleich drei Dinge auf einmal!), der liegt mit diesem Buch genau richtig. Und um abschließend noch einmal die Herausgeber selbst zum Thema Gehirn zu Wort kommen zu lassen: „Hirn ist in oder – pardon! – Geist ist geil.“ Dem ist eigentlich nichts hinzuzufügen.

**Manfred Spitzer, Wulf Bertram (Hrsg.)**  
*Braintertainment - Expeditionen in die Welt  
von Geist und Gehirn*  
Schattauer Verlag, 2007, 208 S. geb.  
ISBN 3-7945-2515-9, EUR 29,29/CHF 47,90

## Beitrittserklärung:

Hiermit erkläre ich meinen Beitritt zur Neurowissenschaftlichen Gesellschaft e.V.

## Eintrag in das Mitgliederverzeichnis:

Name \_\_\_\_\_

Vorname \_\_\_\_\_

Titel \_\_\_\_\_

## Dienstadresse

Universität/Institut/Firma \_\_\_\_\_

Straße \_\_\_\_\_

PLZ, Ort \_\_\_\_\_

Tel./Fax/eMail \_\_\_\_\_

## Privatadresse

Straße \_\_\_\_\_

PLZ, Ort \_\_\_\_\_

Tel./Fax \_\_\_\_\_

**Datum/Unterschrift des neuen Mitglieds**

Ich unterstütze den Antrag auf Beitritt zur Neurowissenschaftlichen Gesellschaft e.V.:

**Datum/Unterschrift**

Ich unterstütze den Antrag auf Beitritt zur Neurowissenschaftlichen Gesellschaft e.V.:

**Datum/Unterschrift**

Neurowissenschaftliche Gesellschaft e.V.  
Meino Alexandra Gibson  
Max-Delbrück-Centrum für Molekulare Medizin  
Zelluläre Neurowissenschaften  
Robert-Rössle-Straße 10

D-13092 Berlin

## Ich optiere für folgende 2 Sektionen:

(bitte ankreuzen)

- Verhaltensneurowissenschaften
- Zelluläre Neurobiologie
- Entwicklungsneurobiologie und Neurogenetik
- Neuropharmakologie und -toxikologie
- Systemneurobiologie
- Molekulare Neurobiologie
- Klinische Neurowissenschaften
- Computational Neuroscience
- Kognitive Neurowissenschaften

## Ich bin Student

(Bescheinigung anbei)

ja  nein

## Jahresbeitrag:

(bitte ankreuzen)

- 50,- €/Jahr ordentliches Mitglied
- 25,- €/Jahr Studenten, Mitglieder im Ruhestand, Arbeitslose

## Überweisung:

Bankverbindung: Berliner Bank AG,  
Blz: 100 200 00, Kto.-Nr.: 810 505 1800

## Einzug über VISA-Kreditkarte:

## Einzug über EUROcard:

Kartenummer \_\_\_\_\_

Exp.Date \_\_\_\_\_

Betrag \_\_\_\_\_

Name \_\_\_\_\_

Unterschrift \_\_\_\_\_

## BANKEINZUGSERMÄCHTIGUNG

Ich ermächtige die Neurowissenschaftliche Gesellschaft e.V. von meinem

Konto Nr. \_\_\_\_\_

bei der Bank \_\_\_\_\_

BLZ \_\_\_\_\_

einmal jährlich den Mitgliedsbeitrag in Höhe von € \_\_\_\_\_ einzuziehen

Ort, Datum \_\_\_\_\_

Unterschrift \_\_\_\_\_

Kontoinhaber \_\_\_\_\_

Anschrift \_\_\_\_\_

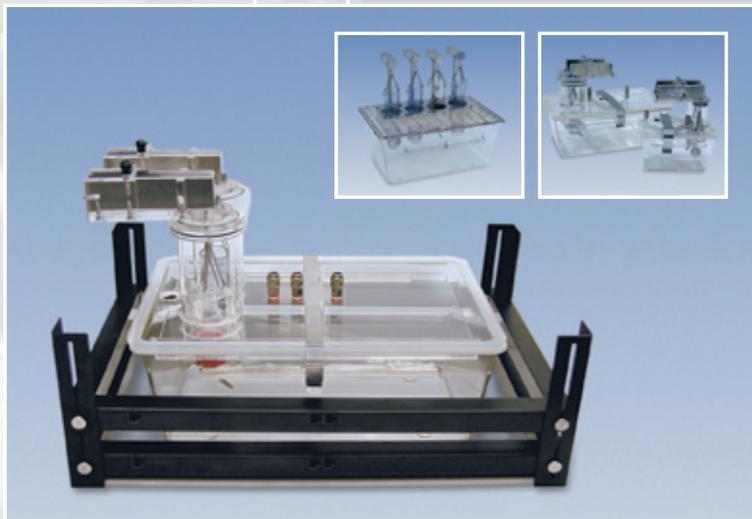
# Sophisticated Life Science Research Instrumentation



## In-Vivo Phenotyping

State-of-the-art behavioral and physiological animal research systems for a wide variety of scientific investigations

- Fear Conditioning
- Active & Passive Avoidance
- Operant Conditioning
- Learning & Memory
- Anxiety & Depression
- Startle Response/PPI
- Activity & Motor Function
- Metabolism



■ *LabMaster - Integrated Modular Monitoring System*



**New**

■ *Multi-Conditioning System*

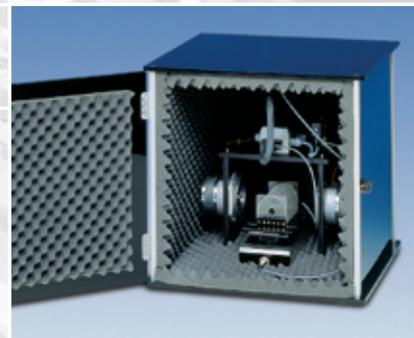


■ *Fear Conditioning System*



**Coming Soon**

■ **PhenoMaster Project:** Fully Automated High-Throughput Phenotyping System



■ *Startle Response / PPI System*

**TSE Systems GmbH**

A member of the TSE Systems International Group

USA Toll free: Phone 1-866-466-8873 • Fax 1-866-467-8873, Germany: Phone +49-(0)6172-789-0 • Fax +49-(0)6172-789-500

**info@TSE-Systems.com • www.TSE-Systems.com**

Neuroscience – Phenotyping – Drug Screening